

HISTOLOGISCHE, HISTOCHEMISCHE UND
MORPHOMETRISCHE
UNTERSUCHUNGEN ZUR POSTNATALEN
ONTOGENESE DER GONADEN DES
MÄNNLICHEN SCHAFES

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von
Josef Schmidt
aus
Schmidmühlen

München 1989





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Anatomie
der Universität Regensburg

Arbeit angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr. med. vet. et rer. nat. K.-H. Wrobel

vorgelegt über
Prof. Dr. med. vet. B. Vollmerhaus
Vorstand des Instituts für Tieranatomie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

HISTOLOGISCHE, HISTOCHEMISCHE UND MORPHOMETRISCHE
UNTERSUCHUNGEN ZUR POSTNATALEN
ONTOGENESE DER GONADEN DES
MÄNNLICHEN SCHAFES

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Josef Schmidt
aus
Schmidmühlen

München 1989

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Univ. Prof. Dr. B. Vollmerhaus

Korreferent: Priv.Do. Dr. Dr.habil. W. Kähn

Tag der Promotion: 28. Juli 1989

Inhaltsverzeichnis

Seite

1.	Einleitung	3
2.	Material und Methodik	
2.1	Materialgewinnung	5
2.2	Materialaufbereitung	5
2.2.1	Präparation für die lichtmikroskopische Untersuchung	8
2.2.2	Präparation für enzym- und substrathistochemische Untersuchungen	8
2.2.3	Morphometrische Untersuchungen	9
2.2.4	Ermittlung des Tubulusdurchmessers	9
2.2.5	Ermittlung des flächenmäßigen Anteils der Leydigzellen	9
2.2.6	Numerische Erfassung der verschiedenen intertubulären Zelltypen	11
2.2.7	Mathematische Grundlagen zur statistischen Auswertung der Meßwerte	12
3.	Befunde	
3.1	Korrelation der Parameter Alter-Lebendgewicht-Hodenvolumen	13
3.2	Histologische Befunde	15
3.3	Enzym- und substrathistochemische Befunde	34
3.3.1	NADH-T-Reductase	34
3.3.2	NADPH-T-Reductase	36
3.3.3	Succinatdehydrogenase	36
3.3.4	Alkalische Phosphatase	36
3.3.5	Adenosintriphosphatase	38
3.3.6	Saure Phosphatase	39
3.3.7	Unspezifische Esterase	39
3.3.8	Fettfärbung mit Sudanschwarz-B	40
3.4	Histometrische Befunde	
3.4.1	Prozentualer Anteil der Hodentubuli während der postnatalen Ontogenese	56
3.4.2	Prüfung der drei Entnahmestellen (T/B, T/C, T/D) auf signifikante Unterschiede	56
3.4.3	Morphometrie des Tubulusdurchmessers	59

3.4.4	Quantitatives Verhalten des intertubulären Areals in der postnatalen Ontogenese	59
3.4.5	Flächenmäßiger Anteil der Blut- und Lymphgefäße in den Lobuli testis	59
3.4.6	Flächenmäßiger Anteil der intertubulären Zellen	60
3.4.7	Flächenmäßiger Anteil der Leydigzellen	60
3.4.8	Numerische Erfassung der 4 intertubulären Zelltypen	61
4.	Diskussion	
4.1	Korrelation der Parameter: Alter-Lebendgewicht-Hoden- volumen	71
4.2	Beziehungen zwischen Hodenvolumen, Entwicklungsgrad der Tubuli seminiferi und der intertubulären Region	71
4.3	Homogenität des Hodengewebes während der Ontogenese	74
4.4	Das Verhalten der intertubulären Zellen in der post- natalen Ontogenese	75
4.5	Ontogenese der Membrana propria	78
5.	Zusammenfassung	82
6.	Summary	84
7.	Literaturverzeichnis	86

1. Einleitung:

Die Gonade ist das Organ mit der längsten Ontogenese, welche erst mit Abschluß der Pubertät beendet ist. Während der gesamten prae-natalen und postnatalen Entwicklungsperiode machen Hodentubuli und intertubuläres Areal charakteristische, morphologische Veränderungen durch, die allerdings nicht nur auf die postpuberale, adulte Funktion ausgerichtet sind, sondern denen auch während der Entwicklung richtungsbestimmende Signalwirkungen in sensiblen Phasen zukommen. So bestimmen im männlichen Geschlecht von fetalen Leydigzellen produzierte Androgene die Differenzierung des Wolff'schen Ganges zu Nebenhoden und Ductus deferens. Stützzellen der prae-natalen Tubuli seminiferi produzieren ein Proteohormon, das Anti-Müller-Hormon, welches im männlichen Geschlecht eine Rückbildung des Müllerschen Ganges veranlaßt.

Bei bisherigen Untersuchungen zur postnatalen Hodenentwicklung hat das Hauptaugenmerk bis jetzt fast ausschließlich auf den Ereignissen innerhalb der Hodentubuli und hier auf der Keimzellfraktion gelegen. Es hat sich aber gezeigt, daß auch die intertubulären Zellen (Leydigzellen, peritubuläre Zellen, mononukleäre Zellen) charakteristische Veränderungen während der postnatalen Ontogenese durchlaufen (Wrobel et al., 1973; Dierichs und Wrobel, 1973; Dostal, 1988; Wrobel et al., 1988).

Der adulte Hoden besitzt eine vorwiegend aus Kollagen und elastischem Bindegewebe aufgebaute Tunica albuginea, welche die eigentliche Organkapsel darstellt. Eine ihrer Hauptaufgabe liegt darin, den testiculären Binnendruck zu gewährleisten. Die innere Schicht der Tunica albuginea ist die Tunica vasculosa, in welcher größere Aufzweigungen der A. u. V. testicularis zu finden sind. Von der Tunica albuginea aus, die beim Schaf wie bei Pferd und Schwein gelegentlich glatte Muskelzellen enthält (Dellmann und Wrobel, 1987), ziehen Bindegewebsstränge radiär auf das annähernd zentral gelegene Mediastinum zu, welches das nischenreiche Rete testis beinhaltet. Zwischen diesem Bindegewebsgerüst liegen die Hodenlobuli (Lobuli testis). Jeder Lobulus enthält 2-5 Tubuli seminiferi contorti und das dazwischen gelegene intertubuläre Kompartiment.

Die vorliegende Arbeit ist eine Untersuchung über die postnatale Ontogenese des Schafhodens vom 11. Lebenstag bis zur adulten Situation. Der paarige Hoden, Testis, entwickelt sich prae-natal als ein Teil des männlichen Reproduktionssystems retroperitoneal im Abdomen und steigt beim Schaf noch während der Gravidität über den Leistenkanal in das Skrotum ab. Entwicklung, Größenzunahme und funktionelle Ausreifung des Organs dauern bei der Spezies Schaf abhängig von Rasse, Ernährungs-, Gesundheitszustand und zahlreichen Umwelteinflüssen (Temperatur, Licht, Feuchtigkeit) bis zu einem Alter von ca. 150-180 Tagen (Behrens, 1987).

Untersuchungen zur postnatalen Entwicklung des Schafhodens sind nicht häufig, beschränken sich auf Einzelfragen und entsprechen auch nicht mehr dem heutigen Stand der Technik. Courot (1962) gibt einen Abriß der Tubulusentwicklung an Hand paraffineingebetteter lichtmikroskopischer Präparate. Während seine Angaben zu Tubulusdurchmesser, Anzahl der Keimzellen in den Tubulusquerschnitten sowie prozentualem Anteil der Tubuli am Hodengewebe wichtige Informationen enthalten, die auch heute noch Gültigkeit haben, sind detaillierte Angaben zu den diversen intertubulären Zellen und zur Entwicklung der Membrana propria der Tubuli mit den verwendeten technischen Methoden nicht möglich. Galina (1972) berichtet über ultrastrukturelle Merkmale der intertubulären Zellen während der Ontogenese von mehreren Haustieren u.a. vom Schaf. In dieser Arbeit fehlen aber quantitative Aspekte. Gänzlich unbeachtet blieb bisher beim Schaf die Frage, ob im Hodengewebe regionale Unterschiede auftreten, wie das bei der Ontogenese des Rinderhodens beobachtet wurde (Dostal, 1988).

Die vorliegende Dissertation ist Teil eines Programmes, welches sich zum Ziel gesetzt hat, alle morphologischen Aspekte der postnatalen Ontogenese des Schafhodens mit histologischen, histochemischen, ultrastrukturellen und morphometrisch-quantitativen Methoden zu untersuchen. Zur Verwendung kommt ausschließlich perfusionsfixiertes Material, welches artefizielle Verlagerungen bei der Eröffnung der Tunica albuginea ausschließt.

2. Material und Methodik

2.1 Materialgewinnung:

Zur Untersuchung kamen 58 Hoden von 29 Tieren der Rasse Merino sowie Kreuzungen der Rassen Merino und Suffolk. Die Materialsammlung erfolgte im Zeitraum Februar bis Juli 1987 im Raum Sulzbach-Rosenberg/Oberpfalz. Das Alter der Tiere, denen die Hoden mittels bedeckter Kastration entnommen wurden, variierte zwischen dem 11. und 143. Lebenstag, das Lebendgewicht zwischen 6 und 48 kg.

2.2 Materialaufbereitung:

Unmittelbar nach der Hodenentnahme und Entfernung des Periorchi-ums wurden Längs(a)- und Querdurchmesser(b) des Organs ermittelt. Das Hodenvolumen wurde nach der Formel

$$V = (1/6) \pi \cdot a \cdot b^2$$

berechnet und wird in cm³ oder g angegeben, da im Rahmen dieser Arbeit Volumen und Masse des Organs nach Swiestra (1966) und Courrot (1977), die für das spezifische Hodengewicht den Wert 1,038 bzw. 1,028 ermittelten, gleichgesetzt werden können.

In Tabelle 1 sind die bei der Materialgewinnung notierten Daten über Alter, Lebendgewicht und das errechnete Hodenvolumen aufgeführt. Die Auflistung erfolgte nach aufsteigendem Hodenvolumen, da sich bei unseren Untersuchungen die Resultate von Courrot (1962) bestätigten, daß die Größe Hodenvolumen mit dem testikulären Entwicklungsgrad enger korreliert als die Parameter Alter oder Körpergewicht.

lfd. Nr.	Alter (in Tg)	Lebendgewicht (in kg)	Hodenvolumen (in cm ³)
1	51	14	0,89
2	30	10	1,43
3	11	6	1,66
4	42	12	1,95
5	30	10	2,26
6	42	12	2,26
7	64	21	3,78
8	53	19	4,58
9	64	21	5,45
10	64	19	6,07
11	72	25	7,60
12	73	27	7,60
13	95	22	8,62
14	91	31	11,45
15	95	22	12,11
16	91	31	12,39
17	73	27	12,98
18	73	29	13,21
19	117	29	14,16
20	117	29	15,27
21	124	29	15,27
22	124	29	16,29
23	84	32	16,30
24	105	36	18,85
25	105	36	21,98
26	105	40	25,42
27	95	25	26,81
28	95	25	29,50
29	98	32	33,45
30	112	43	54,22
31	112	43	58,79
32	143	42	93,97
33	143	42	96,27
34	119	48	125,06
35	143	43	157,81

Tabelle 1: Das Material wurde nach aufsteigendem Hodengewicht geordnet. In sämtlichen nachfolgenden Tabellen werden nur mehr die laufenden Tiernummern (lfd.Nr.) und das Hodenvolumen angegeben.

Für die morphologischen Untersuchungen wurde von jedem Tier wenigstens 1 Hoden unter leichtem Druck per Hand über den parallel zum Nebenhodenkörper verlaufenden, intratunicalen Abschnitt der A. testicularis perfusionsfixiert: Dabei werden zuerst eine Spülflüssigkeit (Zusammensetzung bei Wrobel et al., 1978), anschließend die Gemische I und II nach Forssmann et al. (1977) injiziert. Die Verwendung von perfusionsfixiertem Material stellt sicher, daß während der technischen präparatorischen Prozesse die intratestikuläre, topographische Integrität gewahrt bleibt und somit ein möglichst optimaler Erhaltungszustand gesichert wird. Die fixierten Hoden wurden in 0,3 bis 0,5 cm dicke transversale Scheiben geschnitten. Aus einer solchen äquatorialen Hodenquerschnittscheibe wurden jeweils Gewebestücke von 1 bis 2 mm Kantenlänge aus den in Abb.1 angegebenen Entnahmestellen B, C und D entnommen und mit 1 %igem Osmiumtetroxid 60 Minuten nachfixiert. Eine kleine Anzahl nichtosmierter Gewebestückchen wurde mit Phosphorwolframsäure blockkontrastiert. Die Einbettung erfolgte in ERL nach Spurr (1969).

Die Hoden von Tieren ausgewählter Altersstadien wurden für spätere enzymhistochemische Untersuchungen in flüssigem Stickstoff tiefgefroren.

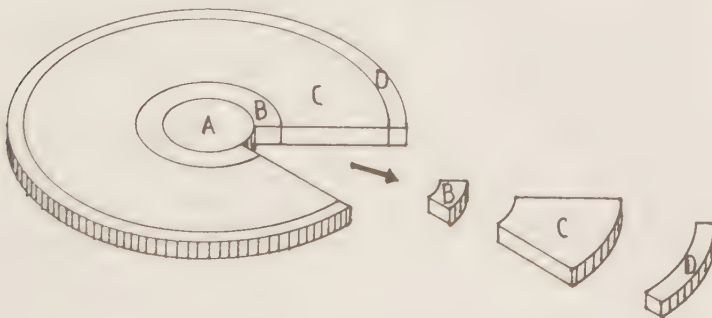


Abb.1: Schematische Zeichnung einer Hodenquerschnittscheibe mit den Entnahmestellen der Proben B (retenah), C (zentral) und D (subtunikal). A kennzeichnet die Position des Media-stinum testis mit dem Rete testis.

2.2.1 Präparation für die lichtmikroskopische Untersuchung:

An einem Reichert-Ultramikrotom wurden für die lichtmikroskopische Untersuchung 1 µm dicke Gewebeschnitte hergestellt. Pro Entnahmestelle wurden 3 Gewebeblöcke (somit 3 verschiedene Situationen) semidünn geschnitten.

2.2.2 Präparation für enzym- und substrathistochemische Untersuchungen:

Für die histochemischen Reaktionen wurde das in Stickstoff tiefgefrorene Material auf Objektblöcke mit CO₂-Schnee aufgefroren und in einem Kryostaten (System Dittes-Duspiva, Modell 881 T) in ca. 10 Mikrometer Dicke geschnitten, und die Schnitte auf unbeschichtete Objektträger aufgezogen.

Folgende Enzyme und Substrate werden nachgewiesen:

- NADH-Tetrazolium-Reductase (Lojda 1965 mod.n. Pearse, 1972)
- NADPH-Tetrazolium-Reductase (Lojda 1965 mod.n. Pearse, 1972)
- Succinatdehydrogenase (SDH n. Kugler und Wrobel, 1978)
- Alkalische Phosphatase (Gomori, 1949)
- Adenosintriphosphatase (ATPase mod.n. von Deimling, 1964)
- Saure Phosphatase (Lojda 1976 mod.n. Barka und Anderson, 1962)
- Unspezifische Esterase (Holt und Withers, 1958)
- Lipidnachweis mit Sudanschwarz-B (nach Lison aus Romeis, 1968)

Auswertungskriterien:

Um bei der Beschreibung der Befunde Änderungen im Enzymgehalt auffälliger zu charakterisieren, werden die Reaktionsergebnisse entweder durch eine verbale Angabe oder ein entsprechendes Symbol wie folgt bewertet:

negative Aktivität = - , äußerst schwache Aktivität = $\pm$, schwache Aktivität = + , mittelgradige, mäßige Aktivität = ++, starke Aktivität = +++ , sehr starke Aktivität = ++++

2.2.3 Morphometrische Untersuchungen:

Die morphometrische Ermittlung von Tubulus-, Interstitium-, Matrix-, Gefäß- und Zellanteil erfolgte mit Hilfe eines Mikroskop-Video-Systems (Abb.2 u.3) an Semidünnschnitten. Ein 2,5 x Okular, das mit einer Netzmikrometerplatte bestückt war, wurde zwischen Videokamera und Mikroskop eingebaut (siehe Pfeil in Abb.2). Auf dem Bildschirm des Monitors (20 cm x 16 cm) war somit ein in 99 Kreuzungspunkte unterteiltes, gleichmäßiges Gitter sichtbar, welches den Semidünnschnitt überlagerte. (Abb.3)

Die Auswertung erfolgte mit einem 2,5 x Okular sowie 25 x und 40 x Objektiven. Pro Schnitt wurde eine Fläche von 0,2 mm² (40 x Objektiv) bzw von 0,32 mm² (25 x Objektiv) gemessen. Insgesamt wurden pro Hoden 2673 Kreuzungspunkte an 27 Schnitten (9 willkürlich ausgewählte Schnitte pro Entnahmestellen B, C und D) mit einer Gesamtfläche von 5,4 mm² (bei 25 x Objektiv 8,6 mm²) ausgewertet.

2.2.4 Ermittlung des Tubulusradius:

Die Tubulusradien wurden mit einem Morphomat der Firma Zeiss aus dem Umfang rechnerisch ermittelt. Aus jedem Hoden wurden 100 exakt querschnittene Tubuli pro Entnahmestellen B, C, u. D vermessen.

2.2.5 Ermittlung des flächenmäßigen Anteils der Leydigzellen:

Die histometrische Ermittlung erfolgte mit Hilfe einer Integrationsplatte (10 x Integrationsokular), die in 900 Trefferpunkte

Das Mikroskop-Video-System



Abb. 2



Abb. 3

unterteilt war, bei 400-facher Vergrößerung an Semidünnschnitten. Pro Hoden wurden mindestens 15 verschiedene Einstellungen ausgezählt (13500 Punkte).

2.2.6 Numerische Erfassung der verschiedenen intertubulären Zelltypen:

Die zahlenmäßige Differenzierung der verschiedenen intertubulären Zelltypen (Bindegewebs-, peritubuläre -, mononukleäre -, Leydig-Zellen) wurde bei den jüngeren Tieren (Hodenvolumen < 90 cm³, Alter < 119 Tage) mit einem 10 x Okular und 40 x Objektiv vorgenommen, bei den übrigen wurde ein 25 x Objektiv verwendet. Insgesamt wurden pro Hoden 20 Situationen und damit eine Gesamtfläche von 0,48 mm² (bei 25 x Objektiv: 1,28 mm²) ausgewertet. Die Gesamtzahl der intertubulären Zellen lag jeweils über 1000 pro Hoden.

Bei allen morphometrischen Untersuchungen wurde nur das Gewebe der Lobuli testis berücksichtigt. Die Basallamina zählte als Bestandteil des Tubulus; die peritubulären Zellen hingegen wurden dem intertubulären Bereich zugeordnet. Zu den Gefäßen zählte das Lumen und die gesamte Wandung einschließlich der Adventitia.

2.2.7 Mathematische Grundlagen zur statistischen Auswertung der Meßwerte:

Zur Prüfung einer linearen Beziehung ist die Bestimmung der Parameter a und b in der Funktionsgleichung $y = a + bx$ notwendig. Diese charakterisiert eine Regressionsgerade, welche sich aus der Punktwolke (Zahl der vorhandenen Meßdaten) im x - y Koordinatensystem ermitteln läßt.

Der Grad des Zusammenhangs, von dem die Regressionsgerade einen Eindruck vermittelt, wird quantitativ durch den Korrelationskoeffizienten r angegeben. Dieser Korrelationskoeffizient kann alle Werte zwischen -1 und $+1$ annehmen; ist $r = 0$, so liegt kein Zusammenhang vor; ist $r = \pm 1$, so ist der Zusammenhang direkt bzw. indirekt linear.

Zur Optimierung d.h. zur Vergrößerung des Korrelationskoeffizienten wird anstatt einer nichtlinearen Regressionsanalyse (sie ist extrem aufwendig und unanschaulich) die Punktwolke durch zwei abschnittsweise definierte Regressionsgeraden beschrieben. Dazu wird eine Gruppierung der Meßwerte vorgenommen und durch günstige Wahl der Einteilung versucht, möglichst große Korrelationskoeffizienten zu erhalten.

Die F-Verteilung:

Will man Stichproben vom Umfang $n_1, n_2, \dots$ und den jeweiligen Varianzen $s_1^2, s_2^2, \dots$ auf die Frage hin untersuchen, ob sich ihre Varianzen nur zufällig voneinander unterscheiden, so wird üblicherweise ein F-Test durchgeführt. Die F-Verteilung berücksichtigt die Irrtumswahrscheinlichkeit α , die Anzahl und den Umfang der Meßreihen, die dann in Freiheitsgraden ausgedrückt werden. Liegen die praktischen F-Werte über den theoretischen Werten, so ist die Nullhypothese auf einem vorgegebenen Signifikanzniveau zu verwerfen (Adam, 1972; Rasch, 1983).

Die konkrete rechnerische Auswertung der Meßwerte und die dazugehörigen graphischen Darstellungen erfolgten mit Hilfe eines Atari PC-Computers.

3. Befunde

3.1 Korrelation der Parameter Alter (AL) - Lebengewicht (LG) - Hodenvolumen (HV):

Aus den graphischen Darstellungen (Abb. 4 - 6) und folgenden Tabellenwerten (Tab. 2), ist gut erkennbar, daß zwischen aufsteigendem Alter der Tiere und deren Körpergewicht eine direkte lineare Beziehung, die durch eine Regressionsgerade bestimmt werden kann, besteht. Die Größen Hodenvolumen/Lebengewicht, in ihrer Beziehung durch zwei Regressionsgeraden ausgedrückt, stehen in engerer Relation als Hodenvolumen und Alter der Schafe.

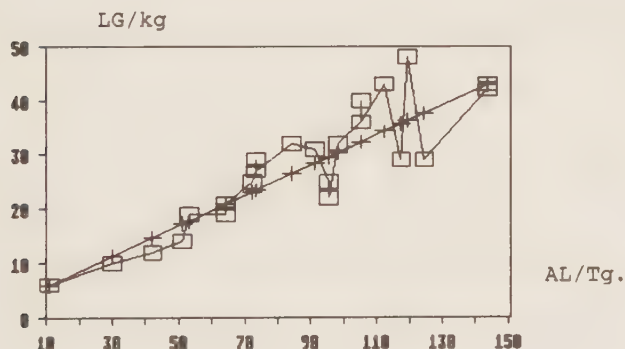


Abb. 4 Graphische Darstellung der linearen Beziehungen zwischen Körpergewicht und Alter

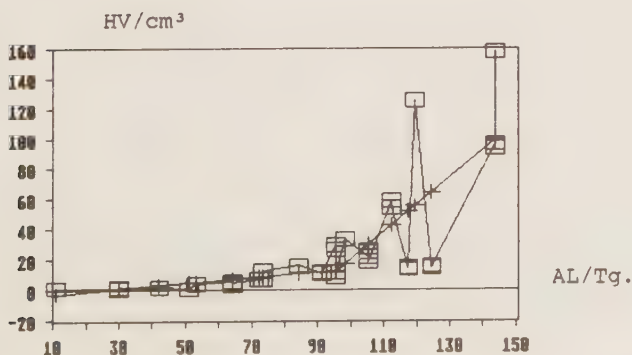


Abb. 6 Die Größe des Hodenvolumens in Abhängigkeit vom Alter

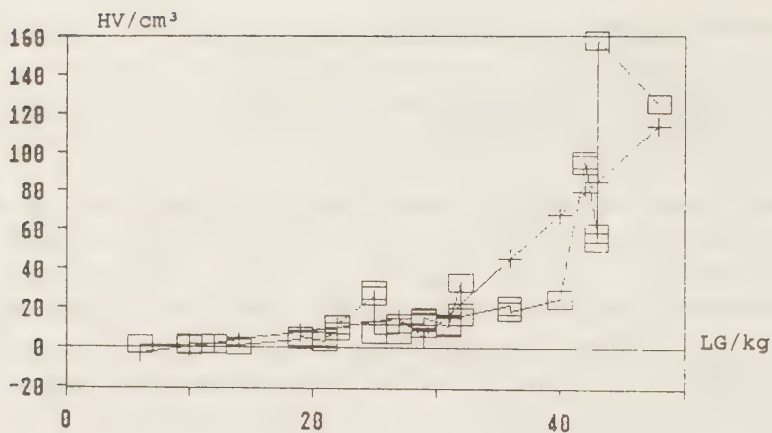


Abb. 6 Zunahme des Hodenvolumens in Abhängigkeit vom Körpergewicht.

	LG/AL	HV/LG	HV/AL
Korrelationskoeffizient	$r = 87,81\%$	$r_1 = 65,32\%$ $r_2 = 81,61\%$	$r_1 = 58,20\%$ $r_2 = 68,72\%$
Gleichung der Regressionsg.	$y = 0,28 \cdot x + 2,9$	$y_1 = 0,84 \cdot x - 7,7$ $y_2 = 5,66 \cdot x - 158$	$y_1 = 0,18 \cdot x - 4,25$ $y_2 = 1,81 \cdot x - 159,7$
Zahl der Meßwerte	$n = 35$	$n_1 = 17$ $n_2 = 18$	$n_1 = 17$ $n_2 = 18$

Tabelle 2: Sie zeigt die zu den Abb. 4-6 gehörigen mathematischen Größen. Die relativ geringen Werte r_1 aus HV/LG und HV/AL sind durch die geringe Steigung der entsprechenden Regressionsgeraden erklärbar.

3.2 Histologische Befunde:

Wie andere Ruminantia besitzt das Schaf ein zentrales Mediastinum testis, welches u.a. das nischenreiche Hohlraumssystem des Rete testis beherbergt. Im Gegensatz zu den meisten Säugetieren liegen Gruppen von Leydigzellen innerhalb des Mediastinum testis (Abb.13). Solche mediastinalen Leydigzellen lassen sich zu allen Zeiten der post-natalen Ontogenese nachweisen.

Das samenbildende Parenchym ist in Lobuli unterteilt, welche durch größere Bindegewebsstraßen getrennt werden. Diese sind auch am Anfang der postnatalen Entwicklung, wo sie am auffälligsten erscheinen, nie echte Septula testis sondern zellreiche Stromastränge, welche die größeren Gefäße, die von der Tunica albuginea zum Mediastinum ziehen, begleiten. Innerhalb solcher radiär verlaufender Stromastränge können bei älteren Tieren auch sehr lange Tubuli recti angetroffen werden. Ein weiteres Charakteristikum dieser Stränge ist, daß sie in sämtlichen untersuchten Entwicklungsstadien locker gefügte Gruppen von ausdifferenzierten Leydigzellen enthalten (trabekuläre Leydigzellen), von denen die Mehrzahl in unmittelbarer Nachbarschaft zur Adventitia größerer Arterien vorkommt (adventitielle Leydigzellen).

Die Lobuli testis, welche das morphologische Substrat für die morphometrischen Messungen abgeben, bestehen aus den Tubuli seminiferi sowie dem intertubulären Gewebe mit kleineren Gefäßen, freien und ortsständigen Bindegewebszellen; hier liegen ferner die intertubulären Leydigzellen, die in der Regel im Zentrum der intertubulären Areale und nur ausnahmsweise in nächster Umgebung der Tubuli angetroffen werden. Alle diese Zellen und Gefäße finden sich eingebettet in eine faserarme, flüssigkeitsreiche Matrix, welche einen ganz wesentlichen, formgebenden Faktor für den Hodenvolumen, insbesondere des wachsenden Organs vor der Lumenbildung in den Tubuli. Der prozentuale Anteil dieser Komponenten dürfte durch die Perfusionsfixierung lebensecht wiedergespiegelt

werden, da wegen der Undehnbarkeit der Tunica albuginea Verlagerungen und Dehiszenzen im Gewebe nicht auftreten können.

Die histologische Untersuchung der Hodenpräparate zeigte, daß der Entwicklungsgrad der Tubuli seminiferi nicht verläßlich mit dem Lebensalter korreliert. Eine bessere Übereinstimmung ist zwischen Reifegrad der Tubuli und dem Hodenvolumen festzustellen. Ohne absolut scharfe Grenzen lassen sich bei unserem Material folgende postnatale Entwicklungsabschnitte erkennen:

I: Hodenvolumen zwischen 0,89 und 2,3 cm³ (Abb. 7, 8, 9)

Die soliden Tubuli seminiferi sind stark geschlängelt. Sie enthalten Stützzellen, deren rundliche Kerne dicht bei dicht in einer Reihe nahe der Tubulusbasis liegen. Im Inneren der Tubuli sieht man große, runde Praespermatogonien I, die durch einen zentralen blasenförmigen Zellkern, helles Zytoplasma und einen perinukleären Mitochondrienkranz gekennzeichnet sind. Diese Praespermatogonien vermehren sich lebhaft, was durch das häufige Vorkommen von Mitosen belegt wird. Sie liegen zumeist tubuluszentral, können aber gelegentlich mit schlanken Fortsätzen zwischen die Stützzellen bis zur Basallamina vordringen. Die Basallamina ist relativ dick. Außen liegt ihr eine, stellenweise noch inkomplette Schicht aus fibroblastenähnlichen Zellen mit elongierten Kernen an.

Das intertubuläre Gewebe innerhalb der Lobuli testis ist relativ zellreich, hingegen matrix- und gefäßarm. Die Gefäße liegen zentral und kommen als Arteriolen, Venulen, Kapillaren und gelegentlich als kleine Lymphgefäße vor. An zellulären Elementen überwiegen die fibroblastenähnlichen Zellen; sie fallen durch ihre längliche Form, ihre Fortsätze und ovoide Zellkerne auf. Um die zentralen Gefäße herum liegen einzeln oder in kleinen Gruppen Leydigzellen. Solche intertubuläre Leydigzellen sind relativ klein, besitzen Plasmafortsätze, haben oft gestreckte Formen und ovoide Zellkerne. Morphologische Übergangsformen zwischen ihnen und fibroblastenähnlichen Zellen werden häufig angetroffen. In beiden Zellpopulationen können Mitosen angetroffen werden. Freie mononu-

kleäre Zellen sind ebenfalls häufig. Sie kommen als Lymphozyten und Monozyten vor. Aber wesentlich häufiger fallen mittelgroße, dunkel tingierte Zellen mit deutlichen plumpen Zellfortsätzen, die man von ihrem Erscheinungsbild her als Makrophagen ansprechen kann, ins Auge.

Die Trabeculae testis enthalten größere Lymphgefäße und dickwandigere weitgehend ausdifferenzierte Blutgefäße. Das Gewebe der Trabeculae ist noch zellreicher als dasjenige zwischen den Tubuli, es kommen aber die gleichen Zelltypen (fibroblastenähnliche-, u. mononukleäre Zellen - v.a. Makrophagen - sowie Leydigzellen) vor. Die Leydigzellen liegen bevorzugt in Gefäßnähe, bilden große locker gefügte Gruppen, die in sich praktisch keine Kapillarisation aufweisen. Diese trabekulären Leydigzellen sind im allgemeinen größer und zytoplasmareicher als die intertubulären; ihre Kerne sind oftmals rund und groß wie bei typischen ausdifferenzierten Leydigzellen.

Unterschiede zwischen den Entnahmestellen B, C und D sind nicht auffällig.

II: Hodenvolumen zwischen 2,3 und 6 cm³ (Abb. 10-11c)

Der auffälligste histologische Unterschied zu den oben beschriebenen Gegebenheiten ist in einer starken Flüssigkeitseinlagerung in das intertubuläre Bindegewebe zu sehen.

Die einzelnen Tubuli haben der Größenzunahme des Hodens offensichtlich nicht in gleichem Maße Schritt gehalten. Deswegen liegen sie durch weite zellarme intertubuläre Räume getrennt. Dieses Phänomen ist in den Regionen B und C deutlicher als in Region D. Die Tubuli haben geringfügig an Dicke zugenommen. Die Stützzellkerne liegen nach wie vor in einer Ebene dicht der Basallamina an. Die Keimzellen erscheinen einmal als Praespermatogonien I zum anderen als etwas kleinere Zellen mit dichterem Zytoplasma. Auch diese Zellen sind noch keine typischen Spermatogonien und werden daher Praespermatogonien II genannt. Beide Praespermatogonien (I u. II) werden in Mitose angetroffen.

Die Lamina propria ist etwas schmaler als in Gruppe I. Ein bis

zwei Lagen abgeflachter peritubulärer Zellen liegen ihr außen an. Die peritubuläre Zellmanschette ist jetzt vollständig.

Die einzelnen intertubulären Zellen in den Lobuli testis liegen weit auseinander. Man sieht wenige zentral gelegene Leydigzellen, Makrophagen und andere mononukleäre Zellen sowie fibroblastenähnliche Elemente mit relativ langen Fortsätzen.

Der Gefäßanteil hat sichtlich zugenommen; insbesondere fallen große, weitgestellte Lymphgefäße in den intertubulären Bereichen auf, die zum Eindruck der relativen Zellarmut beitragen.

Die Trabeculae testis ähneln denen der Gruppe I, weisen ihrerseits aber auch eine Zunahme der ungeformten Matrix auf.

III: Hodenvolumen zwischen 7,6 und 16,3 cm³ (Abb.12 u.14)

Diese Entwicklungsstufe ist durch ein starkes Tubuluswachstum gekennzeichnet. Deswegen sieht man eine dichte Lagerung der Tubulusanschnitte, intratubuläre Mitosen und eine Verkleinerung der intertubulären Areale.

Die Tubuli sind ohne Lumen, obwohl durch die Degeneration von Keim- und Stützzellen zellfreie Lücken innerhalb der Tubuli auftreten können. Die Stützzellkerne liegen nicht mehr alle in gleicher Höhe und in gleichem Abstand von der Basallamina; sie können weiter nach zentral verlagert werden. Möglicherweise lösen sich auch einzelne Stützzellen von der Basis ab und driften nach innen. Im Gegenzug verlagern sich Keimzellen von innen nach peripher. Man sieht Praespermatogonien I und II sowie auch bereits typische basalständige Spermatogonien mit großem Nucleolus. Auch Spermatogonien, die keinen direkten Anschluß an die Basallamina gefunden haben, können sich innerhalb des Tubulus weiter entwickeln. Man sieht die ersten primären Spermatozyten (im Leptotän bis Pachytän), die allerdings allesamt zu degenerieren scheinen.

Mit der Dickenzunahme der Tubuli strecken sich die Stützzellen in die Länge. Ihre Apices, die Filamentbündel oder Mikrotubuli in reichlichem Maße enthalten, sind sehr unregelmäßig konturiert und treten mit gleichartigen Apices benachbarter oder gegenüberlie-

gender Stützzellen in engen Kontakt. Insbesondere solche Stützzellen, deren Kern nach innen verlagert ist, scheinen einer Degeneration anheim zu fallen. In den Stützzellen lassen sich basale Fettröpfchen beobachten.

Die peritubulären Zellen sind stark abgeflacht und umgeben in 2-3 Lagen die relativ dünne Basallamina. Gelegentlich werden Lymphozyten innerhalb der Lage peritubulärer Zellen beobachtet. Diese peritubulären Zellen dürften schon so weit in Richtung Myofibroblasten differenziert sein, daß sie als Vorläufer für andere intertubuläre Zellen nicht mehr in Frage kommen.

Im intertubulären Bereich hat die Matrix abgenommen, die Lymphgefäße sind etwas kleiner geworden. Am Zellbild hat sich gegenüber der vorigen Situation wenig geändert. Man sieht zentral einige Leydigzellen, meist um Blutgefäße herum, ferner Bindegewebszellen und mononukleäre Zellen. Bei letzteren überwiegen die Makrophagen. Gelegentliche Mitosen, wohl in allen Zellkomponenten, weisen auf die, wenn auch langsame, proliferative Tendenz des Stromas hin. Die Umwandlung fibroblastenähnlicher Zellen zu Leydigzellen setzt sich fort.

Die Trabeculae testis sowie der intralobuläre Gefäßanteil verändern sich in der weiteren Ontogenese grundsätzlich nicht mehr. Regionale Unterschiede in den Regionen B, C und D sind nicht auffällig.

IV: Hodenvolumen zwischen 18,8 und 22 cm³ (Abb. 15)

Obwohl die angegebenen Volumina nur einen kurzen Entwicklungsabschnitt wiedergeben, ist die Abhandlung als eigene Gruppe gerechtfertigt. Es ist der Moment kurz vor der Lumenbildung. Die Tubuli sind noch solide. Die Spermatogonien haben an der Basis Platz genommen: ca. 1/4 bis 1/3 aller basalen Zellen sind Spermatogonien. Über der basalen Kernreihe gibt es eine 2. Kernreihe aus Stützzell- und Keimzellkernen. Letztere sind Praespermatogonien I und II und wohl auch Spermatogonien. Ganz selten werden auch schon Spermatozyten I (bis Pachytän) angetroffen. Viele dieser Keimzellen degenerieren. Weiter zentral im Tubulus liegen keine Zellkerne, sondern die langgestreckten, unregelmäßig kontu-

rierten Apikalbereiche der Stützzellen; diese enthalten hier Filamente und/oder Mikrotubuli, die man bereits mit dem Lichtmikroskop als parallele Bündel erkennen kann, und basal größere Lipidtropfen.

Die peritubulären Zellen sind stark abgeflacht und umgeben in 1-3 Lagen die schmale Basallamina.

Die intertubulären Areale sind wegen der Tubulusentfaltung kleiner geworden. Sie enthalten neben den üblichen Zellen (fibroblastenähnliche, mononukleäre Zellen, Lymphozyten, Makrophagen, Leydigzellen) kleinere Lymph- und Blutgefäße. Die Matrix ist stärker tingiert, was für eine Zunahme von Proteinen oder Proteoglykanen spricht. Außerdem sieht man jetzt deutlich kollagene Faserbündel. Einzelne der ohnehin nicht zahlreichen Leydigzellen befinden sich in vakuolärer Degeneration. Diese Zellen entwickeln pyknotische Zellkerne und gehen offensichtlich irreversibel zugrunde. Dieses Phänomen ist nicht artifiziell bedingt, denn unmittelbar daneben liegen völlig intakte Leydigzellen.

Die bisher dargestellten 4 Abschnitte können unter dem Begriff der Entwicklungsphase mit soliden Tubuli seminiferi zusammengefaßt werden.

Die Tubuli zeigen noch keine Lumenbildung. Die Dickenzunahme der Tubuli geschieht kontinuierlich aber langsam. Das Längenwachstum der Tubuli ist offensichtlich phasenhaft und diskontinuierlich: ungeformte Matrix dominiert in den Schnitten, wenn die Tubuli langsam wachsen, Tubuli dominieren, wenn ihre Wachstumsgeschwindigkeit größer ist. Stützzellmitosen sind regelmäßig aber nicht häufig zu sehen. Zu Beginn der postnatalen ontogenetischen Entwicklung gibt es nur große, helle und runde Praespermatogonien I. Im Laufe der Zeit kommt es zur Vermehrung dieser Zellen und zu einer Differenzierung bis zu Spermatogonien, die am Ende des 4. Entwicklungsabschnittes zwischen den Stützzellen Platz an der Tubulusbasis finden. Eine weitere Differenzierung zu Spermatozyten I ist die Ausnahme. Relativ viele Keimzellen in zentraler Position degenerieren wie auch von der Basis abgerückte Stützzellen.

Die Membrana propria besteht aus der Basallamina, die während dieser Beobachtungsphase an Dicke abnimmt, sowie aus den peritu-

bulären Zellen. Diese sind am Anfang undifferenzierte fibroblastenähnliche Zellen, die sich in einer noch unvollständigen Lage um die Basallamina anordnen. Im Laufe dieser Periode flachen sich diese Zellen und ihre Kerne ab; außerdem wird die peritubuläre Zelllage mehrschichtig (1-3) und komplett. Am Ende der Entwicklungsphase mit noch soliden Tubuli dürfte es sich bei den peritubulären Zellen bereits um weitgehend differenzierte Myofibroblasten handeln.

Die intertubulären Areale enthalten zu allen Zeiten Leydigzellen in zentraler Position, ferner fibroblastenähnliche und mononukleäre Zellen (Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen). Kleine, dicht strukturierte, isoliert gelegene, ziemlich typische Makrophagen fallen zu allen Zeiten besonders ins Auge. Die relative Zellzahl im intertubulären Gebiet wird stark von der Entfaltung der ungeformten Matrix beeinflusst.

Leydigzellen als wichtigste Komponente zwischen den Tubuli differenzieren sich aus fibroblastenähnlichen Vorläufern. Die Umwandlungs- und Vermehrungsrate ist beim Schaf sehr klein, deswegen sieht man nur selten Mitosen bei den fibroblastenähnlichen Vorläufern und den Leydigzellen. Kurz vor der Lumenbildung in den Tubuli kann man beim Schaf eine Degenerationswelle bei den Leydigzellen beobachten, die aber im Vergleich zum Rind sehr diskret ist, weil die Gesamtzahl der Leydigzellen nicht hoch ist.

Da sich die peritubulären Zellen recht früh zu Myofibroblasten differenzieren, können diese fortan beim Schaf nicht länger als Quelle zum Nachschub von Leydigzellen dienen.

V: Hodenvolumen zwischen 25,4 und 58,8 cm³ (Abb. 16-18)

Die bisher soliden Tubuli beginnen von jetzt an Lumina auszubilden. Trotz der relativ großen Bandbreite in den Volumina liegt das Alter der 6 in diese Gruppe fallenden Hoden bei allen Tieren um 100 Tage (85 - 112 Tage).

Man kann also sagen, daß unabhängig von dem Muster der vorangegangenen Entwicklung, Schafe mit einem Alter von über 100 Tagen und einem Hodenvolumen von über 25 cm³ in aller Regel Tubuli se-

miniferi mit einem zentralen Lumen besitzen. Vom Alter alleine kann man nicht auf dieses Ereignis schließen.

Während der initialen Lumenbildung kommt es nicht zu einer dramatischen Zunahme der Tubulusquerschnitte. Vielmehr weichen die langen Apices der Stützzellen, die sich vorher berührt haben bei der langsamen Querschnittsvergrößerung etwas auseinander: Hierdurch entstehen regionale Lücken, die dann in Längsrichtung der Tubuli konfluieren.

Im Keimepithel liegen zwei basale Kernreihen übereinander. An der Basallamina finden sich die Spermatogonien und einige Stützzellkerne, in zweiter Position vorwiegend Stützzellkerne. Viele Stützzellen und solche Keimzellen, die nicht als Spermatogonien Kontakt mit der Basallamina haben, degenerieren. Dieser Zellverlust dürfte die Lumenbildung unterstützen.

Im Zuge dieses Entwicklungsabschnittes setzt auch die lichtmikroskopische Umwandlung von Stützzellen zu Sertolizellen ein. Man erkennt dies u.a. daran, daß sich die Kernform ändert, und jetzt Kerne mit tiefen Spalten zu beobachten sind. Die am Anfang der Lumenbildung sehr langen Stützzellen werden bei der weiteren Zunahme des Tubulusquerschnittes kürzer und breiter. Ihre Apices biegen sich tubulusparallel um und zeigen oftmals vakuoläre Erscheinungen. (Es könnte auch ein Plasmaverlust in das Lumen erfolgen). Das basale Zytoplasma enthält Lipidtropfen.

Mit fortschreitender Entwicklung treten regelmäßig Spermatozyten I auf. Diese liegen einzeln, oder in Gruppen in lumennaher Position; die Tubuli zeigen jedoch noch keine segmentale Synchronisation der Spermatozytogenese. Spermatozyten I entwickeln sich bis zum Pachytän und scheinen wegen ihrer adluminalen Lage und einer fehlenden intraepithelialen Koordination und Topographie allesamt zu degenerieren, bevor sie in die Metaphase der Meiose eintreten. Wahrscheinlich setzt eine erfolgreiche Meiose die Existenz einer wirksamen Blut-Hoden-Schranke voraus, die zu diesem Zeitpunkt noch nicht etabliert ist.

Im peritubulären Bereich lagern sich um die 1 - 3 lagige Zelltapeete der Myofibroblasten flache Fibrozyten mit etwas stumpferen, breiteren Zellkernen an. Die Membrana propria scheint damit weitgehend ausdifferenziert zu sein.

Mit zunehmenden Tubulusdurchmessern werden die intertubulären Areale kleiner. Sie bleiben aber relativ zellarm. Die Matrix verdichtet sich, eingelagerte Faserbündel werden häufiger. Um die relativ großen Gefäße im Zentrum der intertubulären Zwickel gruppieren sich einige wenige Leydigzellen. Das gesamte intertubuläre Bild dürfte am Ende dieser Entwicklungsphase der adulten Situation weitgehend entsprechen.

VI: Hodenvolumen zwischen 94 und 125 cm³ (Abb.19,20)

Dieser Entwicklungsabschnitt markiert die Endphase der pubertären Tubulusentwicklung. Die Tubuli zeigen beinahe die adulte Topographie. Sertolizellen sowie Keimzellentwicklung bis zu Spermatiden sind zu beobachten. Man sieht runde und elongierte Spermatiden, die letzteren aber nur gelegentlich und in kleineren Zahlen als beim adulten Tier. Einzelne Tubuli enthalten nur Spermatozyten als reifste Formen. Der Lipidreichtum in den Sertolizellen ist unterschiedlich. Im Keimepithel dürften also Reifungsprozesse bis zur Spermiation ablaufen, es ist allerdings fraglich, ob die zyklischen Abläufe schon vollends etabliert sind.

Durch die weitere Zunahme der Tubulusquerschnitte bietet das intertubuläre Areal adulte Verhältnisse. Man sieht schmale Straßen zwischen zwei benachbarten Tubulusanschnitten und größere mehr-eckige Zwickel. In den ersten liegen wenige Zellen, aber auch die Zwickel mit den größeren Gefäßen sind zellarm.

Polygonale Leydigzellen liegen in geringer Anzahl in den mehr-eckigen intertubulären Bezirken. Schmale Leydigzellen können auch einmal in Tubulusnähe angeordnet sein. Ansonsten finden sich Fibrozyten und mononukleäre Zellen (Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen).

Die Trabeculae testis stellen sich ebenfalls zellärmer als früher dar. Die Leydigzellen darin liegen in kleineren, lockeren Gruppen fast ausschließlich um die größeren Arterien herum (adventitielle Leydigzellen).

Die beiden letzten Entwicklungsabschnitte könnte man als pubertäre Phase der Tubulusentwicklung zusammenfassen. Die pubertäre Phase reicht von der initialen Lumenbildung in den Tubuli bis zum Einsetzen der ersten Spermiationen.

VII: Hodenvolumen über 158 cm³ (Abb. 21)

Dieses Stadium charakterisiert den vollentwickelten Hoden, obwohl im Laufe des weiteren Lebens das Hodenvolumen noch weiter bis zu 300 cm³ ansteigen kann.

In den Tubuli läuft die komplette Spermatogenese einschließlich der zyklischen Ereignisse ab. Lipide und Residualkörper sind vorhanden.

Das intertubuläre Gewebe bildet schmale Stromastraßen und etwas größere vielseitige und -eckige Zwickel. Die Straßen sind zellarm mit gelegentlichen Gefäßen. Nur sehr wenige abgeflachte Leydigzellen finden sich in Tubulusnähe. Die Stromazwickel enthalten auch beim adulten Schaf im Zentrum Lymphgefäße, Arterien und Venen. Um diese Strukturen liegen die wenigen größeren Leydigzellen, auch diese meist in Arteriennähe.

Ansonsten sieht man einige Fibrozyten, Makrophagen und andere mononukleäre Zellen. Die optisch dichte Matrix enthält deutliche Faserbündel.

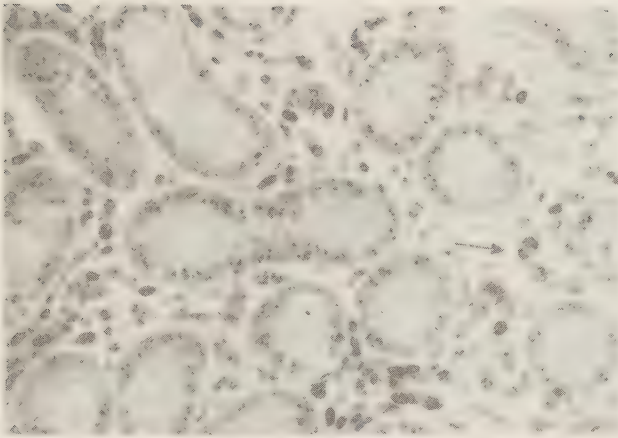


Abb.7 Hodenvolumen (HV) $1,66 \text{ cm}^3$, Semidünnschnitt, $\times 450$
 Die soliden Tubuli bestehen aus Stützzellen, deren Kerne dicht an der Tubulusbasis liegen. Die hellen, großen Praespermatogonien liegen vornehmlich zentral, können sich aber auch mit Fortsätzen zwischen die Stützzellkerne schieben. Das intertubuläre Areal ist sehr zellreich. Man kann fibroblastenähnliche Zellen, rundkernige Leydigzellen und intensiv tingierte mononukleäre Zellen unterscheiden. Der Pfeil zeigt auf eine Mitose.

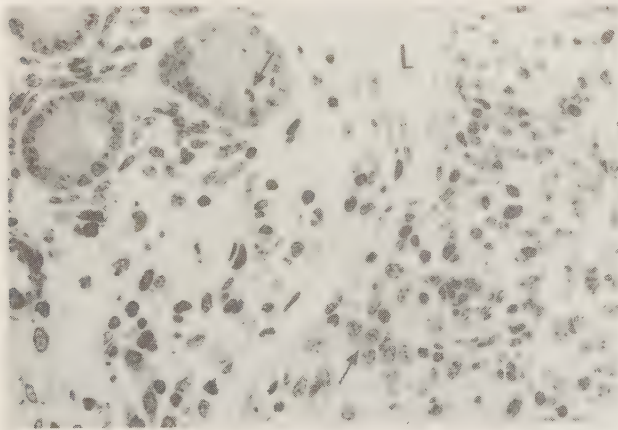


Abb.8 HV $1,66 \text{ cm}^3$, Semidünnschnitt, $\times 450$
 Eine Bindegewebsstraße (Trabeculum testis) wird von einem Lymphgefäß (L) durchzogen. Man beachte den fortgeschrittenen Differenzierungsgrad der trabekularen Leydigzellen (Pfeil) sowie den Reichtum an dunklen, mononukleären Zellen. Oben links Praespermatogonien in Mitose.

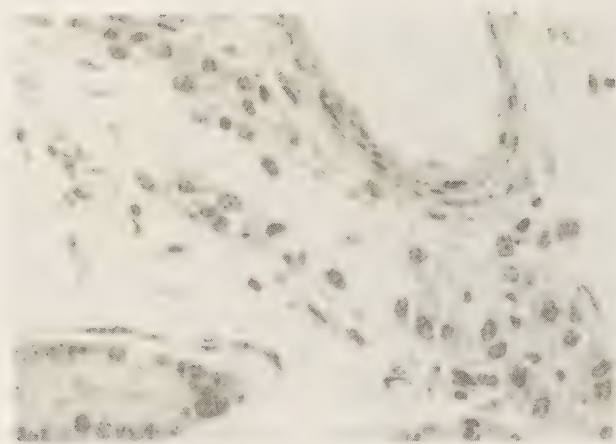


Abb.9 HV 2,26 cm³, Semidünnschnitt, $\times$ 560
Anhäufung von Leydigzellen um ein arterielles Gefäß (adventitielle sowie trabekuläre Leydigzellen) in einer Bindegewebsstraße.

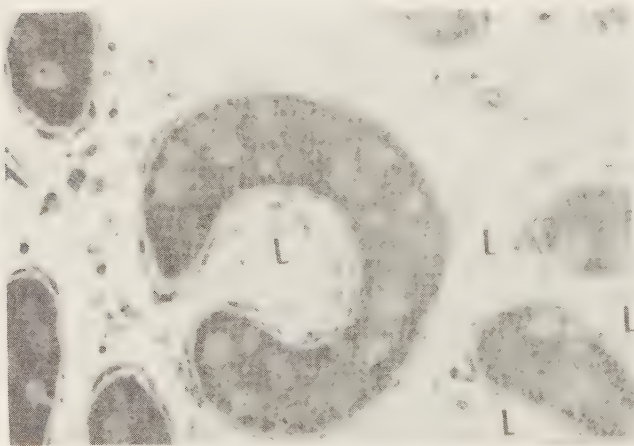


Abb.10 HV 3,78 cm³, Semidünnschnitt, $\times$ 350
Das intertubuläre Areal hat durch verstärkte Flüssigkeitseinlagerung zugenommen. Lymphgefäße (L) sind sehr reichlich vorhanden, hingegen erscheint der Zellanteil reduziert.

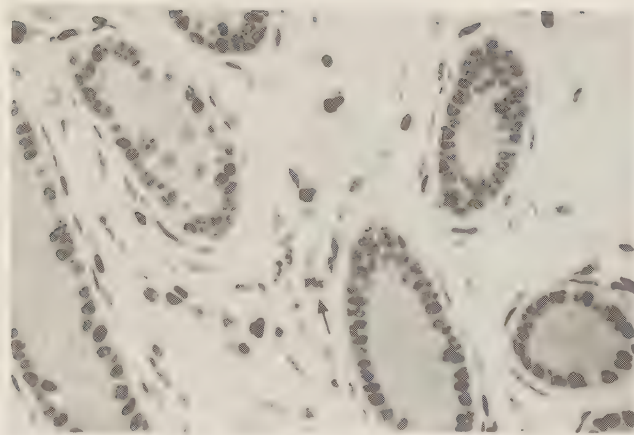


Abb. 11a HV 4,58 cm³, Semidünnschnitt, x 560, Entnahmestelle B
Intertubuläre Mitose

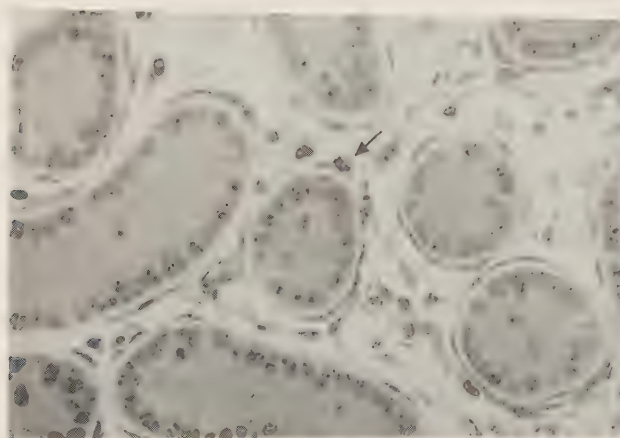


Abb. 11b HV 4,58 cm³, Semidünnschnitt, x 560, Entnahmestelle C
Mitose einer peritubulär gelegenen Zelle. Die peritubuläre Zell-
manschette ist noch inkomplett. Die Tubuli liegen hier dichter
als in 11a.

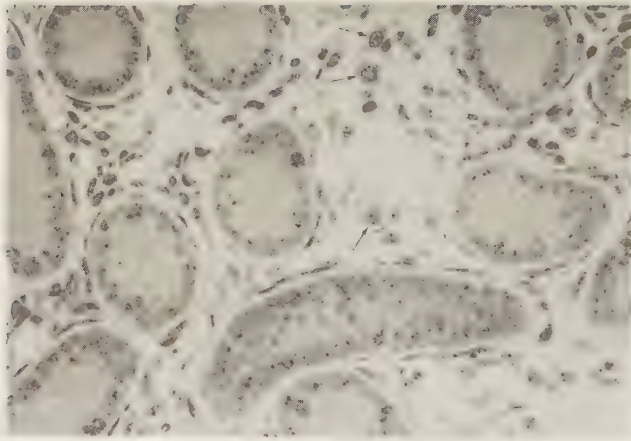


Abb.11c HV 4,58 cm³, Semidünnschnitt, x 350, Entnahmestelle D
Intratubuläre Mitose. Die Leydigzellen (Pfeile) liegen isoliert
im Lobulus testis verteilt. Auch in dieser Entnahmestelle sind
die Tubuli dichter gelagert als im retenahen Gebiet (Abb.11a)

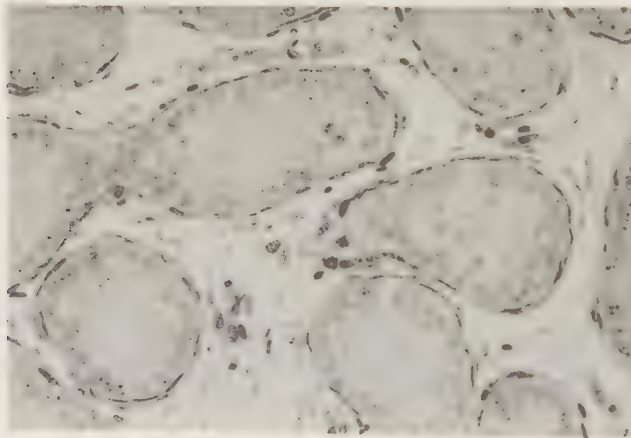


Abb.12 HV 8,62 cm³, Semidünnschnitt, x 350
Mit der Zunahme des Tubulusdurchmessers strecken sich die Stütz-
zellen in die Länge. Ihre Apices sind jedoch sehr unregelmäßig
konturiert. Die Stützzellkerne liegen nicht mehr alle auf glei-
cher Höhe. Die peritubulären Zellen sind stark abgeflacht und
bilden eine vollständige Lage um die Tubuli.

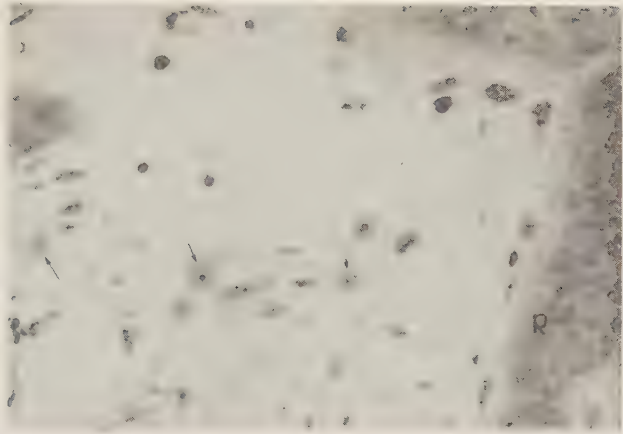


Abb.13 Semidünnschnitt, $\times 560$
 Das Mediastinum mit Rete testis (R) und mediastinalen Leydigzellen.

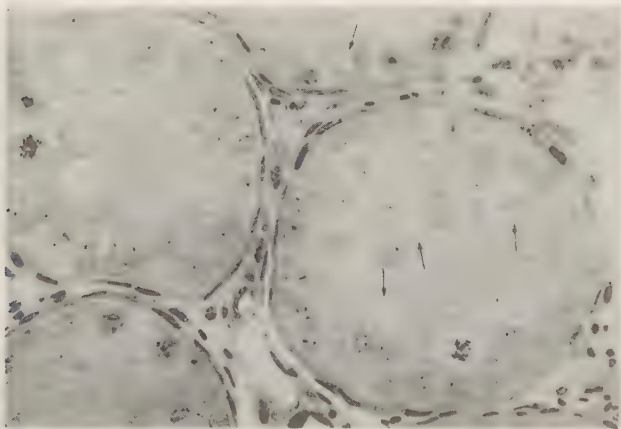


Abb.14 HV 14,16 cm³, Semidünnschnitt, $\times 560$
 Filamentbündel oder Mikrotubuli in den Apices der Stützzellen verleihen diesen ein streifiges Aussehen. Man erkennt Gruppen von Spermatozyten I. Ordnung, die sich offensichtlich nicht weiterentwickeln sondern degenerieren (Pfeile).

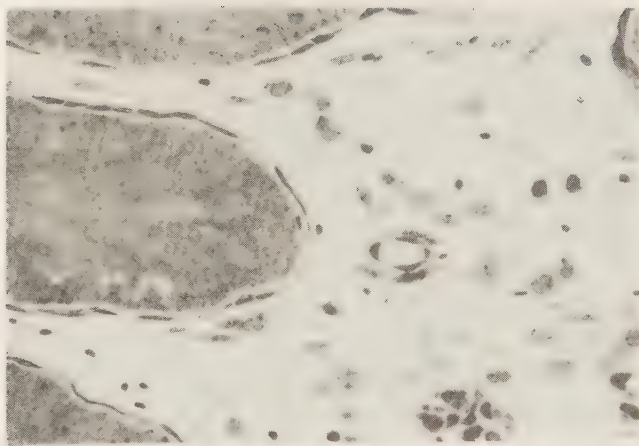


Abb.15 HV 18,85 cm³, Semidünnschnitt, x 560
 Kurz vor der Lumenbildung verfällt ein Teil der Leydigzellen einer vakuolären Degeneration. In den Tubuli sind 1/4 bis 1/3 aller basaler Zellen Spermatogonien. Zentral sieht man die Apikalbereiche der Stützzellen mit ihren parallel angeordneten Filamentbündeln.

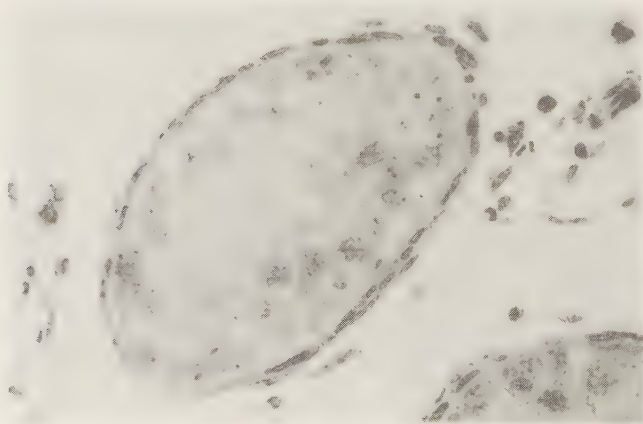


Abb.16 HV 25,42 cm³, Semidünnschnitt, x 560
 Ein Tubulus kurz vor der Lumenbildung. Die Filamentbündel in den Stützellapices sind sehr deutlich zu erkennen.

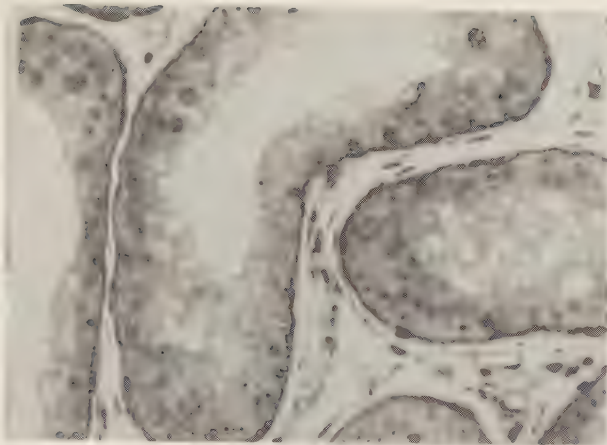


Abb.17a HV 26,81 cm³, Semidunnschnitt, x 350, Entnahmestelle B
voranschreitende Lumenbildung

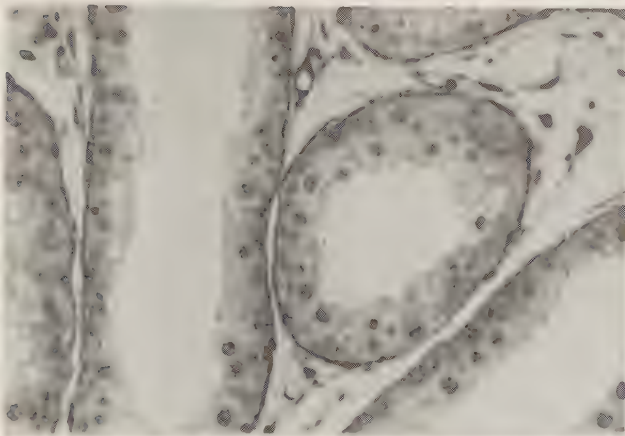


Abb.17b HV 26,81 cm³, Semidunnschnitt, x 350, Entnahmestelle B
Die lumina sind hier bereits deutlicher ausgebildet. Spermatozy-
ten I finden sich in adluminaler Position.

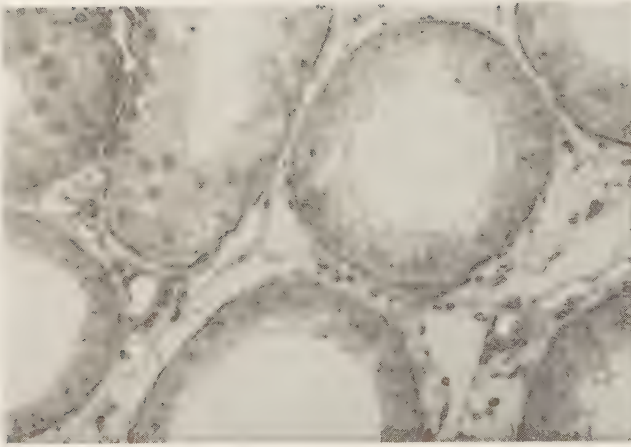


Abb.18 HV 58,79 cm³, Semidünnschnitt, x 350
Das intertubuläre Areal bleibt auch weiterhin relativ zellarm.
Vakuoläre Erscheinungen innerhalb und zwischen den Stützzellen.

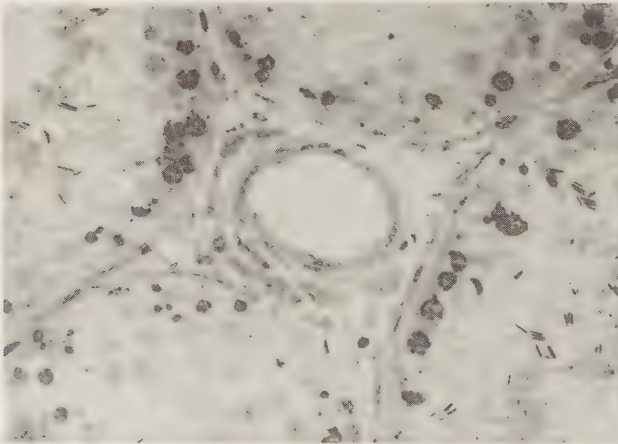


Abb.19 HV 93,97 cm³, Semidünnschnitt, x 450
Perivaskuläre Leydigzellen. In den Tubuli hat sich der Spermato-
genesezyklus bereits nahezu etabliert. Im basalen Abschnitt der
Sertolizellen finden sich große Fetttröpfchen.

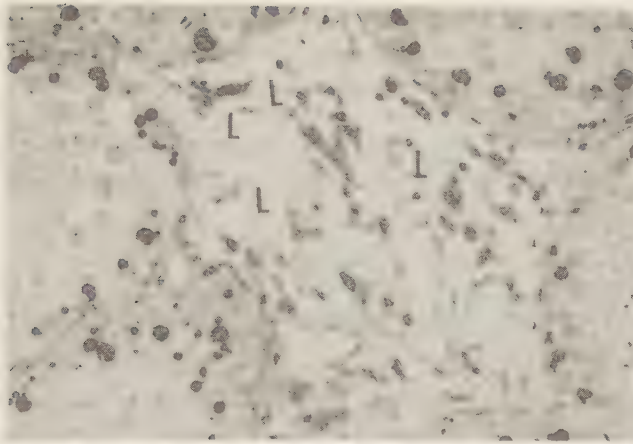


Abb.20 HV 93,97 cm³, Semidünnschnitt, x 350
 Trabeculum testis mit zahlreichen Gefäßen v.a. Lymphgefäßen (L)
 und isoliert liegenden Leydigzellen.

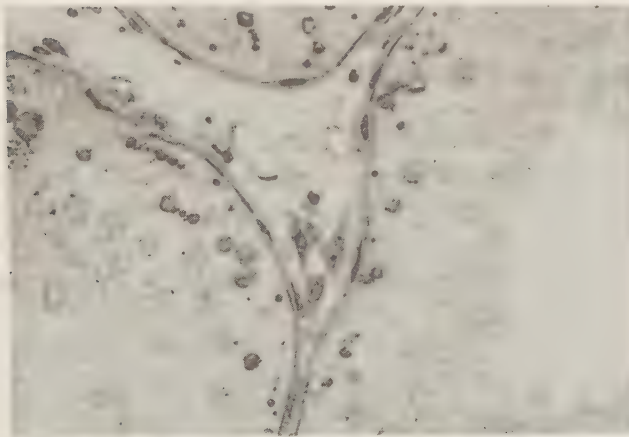


Abb.21 HV 158 cm³, Semidünnschnitt, x 560
 Die in Tubulusnähe gelegenen Leydigzellen nehmen vornehmlich eine
 spindelförmige Gestalt an. In einigen Sertolizellen lassen sich
 Kerne mit ihren typischen, tiefen Spalten erkennen (Pfeile). Der
 Keimepithelzyklus hat sich etabliert: rechter Tubulus in Phase 1,
 linker Tubulus in Phase 2.

3.3 Enzym- und substrathistochemische Befunde

Da sich bei der enzymhistochemischen Untersuchung der Hodenpräparate die enge Korrelation zwischen dem Reifegrad der Tubuli und dem Hodenvolumen bestätigte, werden auch hier die Ergebnisse der 3 Entwicklungsabschnitte dargestellt:

- Entwicklungsphase mit soliden Tubuli
- Phase der pubertären Tubulusentwicklung
- Adulte Phase

3.3.1 NADH-T-Reductase

Entwicklungsphase mit soliden Tubuli: (Abb. 22-25)

In den soliden Tubuli seminiferi zeigt das Stützzellzytoplasma eine mittelgradige bis starke positive Reaktion. Die innerhalb der Tubuli gelegenen runden, großen Keimzellen fallen durch helle runde Kerne und sehr kräftig tingiertes Zytoplasma auf (Praespermato gonien I).

Die epithelialen Strukturen der Tubuli recti und des Rete testis reagieren ohne regionale Unterschiede ähnlich wie die Stützzellen (++).

Im intertubulären Gebiet stellen sich Zellgruppen und Einzelzellen in der Mitte der Zwickel sehr kräftig dar (+++ bis ++++). Diese Zellen sind länglich-polygonal und haben rundliche bis gestreckt-ovale, helle Kerne. Es handelt sich nach den SD-Schnitten um Zellen, die man als Leydigzellen oder deren Vorläufer ansprechen kann. Alle übrigen der in größerer Menge vorhandenen intertubulären Zellen einschließlich solcher, die peritubulär der Basallamina anliegen, geben eine schwache Reaktion (± bis +). In breiteren Bindegewebsstraßen (Trabeculae testis) mit großen Gefäßen liegen z.T. sehr zellreiche Ansammlungen von mehr polygonalen Zellen mit runden Kernen (+++ bis ++++). Es dürfte sich dabei um trabekuläre und adventitielle Leydigzellen handeln. Insgesamt gesehen ist die Inhomogenität der Leydigzellverteilung zu allen Zeiten der Ontogenese sehr auffällig. Auch zwischen den Struktu-

ren des Mediastinums kommen kleine Gruppen stark positiver Zellen vor (mediastinale Leydigzellen).

Die Gefäßwandungen, insbesondere Intima und Media reagieren schwach bis mittelgradig.

Gegen Ende dieses Entwicklungsabschnittes gibt das Stützzellzytoplasma eine mittelgradige Reaktion (++). Man sieht sehr große, rundkernige Keimzellen mit starker Reaktion, die zentral oder mit Kontakt zur Basallamina liegen, ferner etwa halb so große Keimzellen (Praespermatogonien II), die basal zwischen den Stützzellen zu finden sind und sehr stark reagieren, also kräftiger als die großen, runden Praespermatogonien I. Zwischen den Tubuli sind bei etwa gleichbleibender Intensität (+++ - +++) die Zellen zahlenmäßig reduziert. Hingegen haben die Haufen stark positiver Leydigzellen im Mediastinum leicht an Größe zugenommen.

Phase der pubertären Tubululentwicklung: (Abb. 26-27)

Bei Tubuli mit deutlichem Lumen reagiert das Sertolizellplasma mäßig stark. Basal im Keimepithel liegen sehr stark positive, rundliche Zellen mit hellen, runden Kernen einzeln oder in Reihen. Es handelt sich um Spermatogonien oder deren Vorläufer (Praespermatogonien II). Die Leydigzellen, die ein ähnliches Reaktionsbild wie früher zeigen, haben zwischen den Tubuli zahlenmäßig deutlich abgenommen. Im Mediastinum liegen sie in kleinen oder größeren Gruppen unter dem Reteepithel und in der Nachbarschaft größerer Gefäße. Die Zellzahl hat hier zugenommen. Am Ende dieser Phase ist die Spermatogenese bereits bis zur Bildung von Spermatiden zu verfolgen. Das Keimzellplasma reagiert mittelgradig, wobei sich basale Zellen (Spermatogonien) gelegentlich kräftiger, Spermatiden meist etwas schwächer darstellen.

Adulte Phase: (Abb. 28)

Die Leydigzellverteilung ist sehr ähnlich der vorangehenden Beobachtung. In den Lobuli testis zwischen den Tubuli liegen aber eher noch weniger Leydigzellen. Die stark positiven Leydigzellen befinden sich bevorzugt perivaskulär in den Bindegewebssträngen und zu Gruppen formiert im Mediastinum.

Die Tubuli seminiferi reagieren im basalen Kompartiment kräftig; es ist der Bereich, in dem die Fußabschnitte der Sertolizellen,

die Spermatogonien und evtl. die frühen Spermatozyten I liegen. Die Reaktion schwächt sich in adluminaler Richtung ab. Alle übrigen Zellen des Präparates reagieren schwach oder mäßig stark.

3.3.2 NADPH-T-Reductase (Abb. 29)

Sie ergibt prinzipiell ein ähnliches Reaktionsbild wie die NADH-T-Reductase, lediglich die Reaktion innerhalb der Tubuli verläuft etwas differenzierter. Hier stellen sich die Keimzellen wegen einer schwächeren Stützzellreaktion besonders gut dar.

3.3.3 Succinatdehydrogenase

Die SDH-Reaktion fällt insgesamt feingranulärer und kräftiger als die der Diaphorasen aus. Sie erlaubt aber keine zusätzlichen Aussagen, die über diejenigen der Diaphorasen hinausgehen. Die enzymatische Aktivität der Leydigzellen zwischen den Tubuli fällt während der gesamten postnatalen Ontogenese geringer aus als in mediastinalen Leydigzellen. Diese dürften somit organellenreicher sein, da die SDH-Reaktion strikt auf die Mitochondrien konzentriert ist.

3.3.4 Alkalische Phosphatase

Entwicklungsphase mit soliden Tubuli: (Abb. 30-32)

Zu Beginn der postnatalen Entwicklung reagiert die alkalische Phosphatase in den intertubulären Arealen kräftig und ausgedehnt. Sie betrifft sowohl die Leydigzellen als wohl auch die sich formierenden Blutgefäße und einen Teil der fibroblastenähnlichen Zellen. Wegen des großen Umfanges der positiven Bezirke ist eine Abgrenzung in Lobuli und septale Zellgruppen nicht sicher möglich.

Im Mediastinum sieht man einzelne stark positive Gruppen, die wahrscheinlich den Leydigzellen entsprechen. Alle Epithelien verhalten sich negativ.

Im Laufe dieses Entwicklungsabschnittes werden zusätzlich zu den Reaktionsprodukten, welche die intertubulären Räume fast vollständig ausfüllen, die peritubulären Zellen der Membrana propria zunehmend positiv. Es entsteht zuerst eine unterbrochene, schmale reaktive Zone um die Tubuli semiferi. Tubuli recti und Reteepithel verhalten sich anfangs negativ, desgleichen die hier anschließenden späteren subepithelialen Myofibroblasten.

Gegen Ende der Phase mit soliden Tubuli zeigen sich gegenüber den frühen Präparaten einige Veränderungen. Die massive Reaktion in den intertubulären Zwickeln geht zurück; die peritubuläre Zelllage hingegen stellt sich nun komplett dar. Auch reagieren nun einige wenige Myofibroblasten um die Tubuli recti positiv. Die mediastinalen und trabekulären Leydigzellgruppen bleiben weiter stark positiv.

Phase der pubertären Tubulusentwicklung: (Abb. 33-34)

Die Tubuli werden von einer mehrlagigen, positiven, peritubulären Manschette umgeben. Die Lage positiver Zellen um die Tubuli recti ist hingegen unvollständig. Der apikale Saum des Tubulusepithels zeigt sich positiv, weil die Apices der Sertolizellen in steigendem Maße Reaktionsprodukte enthalten. Trabekuläre und mediastinale Leydigzellen bleiben positiv.

In den intertubulären Zwickeln zeigen sich nun positive Einzelgebilde. Es sind hier wahrscheinlich die Leydigzellen und die Kapillaren dargestellt.

Im Zuge der weiteren Entwicklung komplettiert sich die positive Lage um die Tubuli recti.

Adulte Phase: (Abb. 35)

Die adulte Situation offenbart eine starke Aktivitätsabnahme in den Tubuli. Die Sertilozellreaktion ist so gut wie verschwunden. Die peritubuläre Lage erscheint flacher und reagiert abgeschwächt. Intertubuläre Leydigzellen sind praktisch negativ, auch zeichnet sich eine Reaktionsabnahme der trabekulären und mediastinalen Leydigzellen ab. Hingegen zeigen die Myofibroblasten um die Tubuli recti und unter dem Rete eine Reaktionszunahme.

3.3.5 Die Adenosintriphosphatase

Entwicklungsphase mit soliden Tubuli: (Abb. 36-38)

Bereits in der Anfangsphase der Ontogenese zeigen Kapillaren und Gefäßwandungen (Media und Intima) eine kräftige Aktivität (+++). Die intertubulären Zellen geben eine mehr oder weniger kräftige diffuse Reaktion (++). Teilweise sind positive intertubuläre Einzelzellen sowie Zellgruppen zu erkennen. Auch die peritubulären Zellen reagieren; da sie zu diesem Zeitpunkt auf Lücke liegen, ist die peritubuläre Manschette unterschiedlich stark angefärbt. Das Tubulusepithel erscheint negativ.

Die diffuse intertubuläre Reaktion geht noch im Laufe dieses ersten Entwicklungsabschnittes zurück. Dies ist vielleicht auf eine abnehmende, relative Zelldichte zurückzuführen.

Kurz vor dem Übergang in die pubertäre Entwicklungsphase zeigen die peritubulären Zellen einen Qualitätssprung. Die peritubuläre Manschette erscheint jetzt komplett, relativ breit und stark positiv. Diese sehr starke Aktivität übertrifft sogar noch die im Stroma auftretende Kapillarreaktion. Das Tubulusepithel bleibt weiterhin negativ.

Phase der pubertären Tubulusentwicklung: (Abb. 39)

Neben der peritubulären Region, deren Intensität sich noch verstärkt hat zeigen die luminisierten Tubuli eine kräftige Anfärbung ihres apikalen Drittels. Diese apikale Reaktion lokalisiert sich um die runden Spermatiden und in den Apices der Sertolizellen. Tubulus rectus und Reteepithel verbleiben negativ. Im Mediastinum sind nur die Gefäße und Kapillaren deutlich bis kräftig positiv.

Adulte Phase: (Abb. 40)

Das histochemische Bild des adulten Hodens zeigt eine Abschwächung im apikalen Tubulusepithel; hier liegt praktisch nur mehr eine äußerst schwache Reaktion vor. Die jetzt abgeflachte Membrana propria ist durch Reaktionsprodukte extrem tingiert. Die Gefäßwandungen (Intima und Media) bleiben kräftig mit Niederschlägen beladen.

3.3.6 Saure Phosphatase

Entwicklungsphase mit soliden Tubuli: (Abb. 41-42)

In den Tubuli reagiert das Stützzellzytoplasma schwach bis mäßig aber ziemlich diffus; die Keimzellen sind negativ. Von den intertubulären Zellen zeigen einige punktförmige Reaktionen, andere enthalten 2-3 perinukleäre sehr stark positive Granula. Bei den positiven Zellen könnte es sich durchaus um die relativ vielen kleinen typischen Makrophagen aus der mononukleären Zellreihe handeln. In der Folgezeit nimmt in den Tubuli die Reaktionsintensität leicht zu. Im intertubulären Bereich nehmen die sehr stark positiven Makrophagen an Zahl zu. Ein Teil dieser Zellen nimmt eine perivaskuläre Lage ein.

Phase der pubertären Tubululentwicklung:

Mit der Lumenbildung geht ein deutlicher Reaktionsanstieg (+++) in den Sertolizellen einher, die besonders basal reagieren. Etwaige Fettröpfchen bleiben ausgesperrt. Epitheliale Strukturen des Rete testis und der Tubuli recti stellen sich mäßig bis kräftig positiv dar. Sämtliche Myofibroblasten sind negativ. Das intertubuläre Gewebe enthält stark positive Zellen der mononukleären Reihe.

Adulte Phase: (Abb. 43)

Innerhalb der Tubuli zeigen die Sertolizellen v.a. eine basale, selektive, sehr starke Reaktion. Einzelne intertubuläre Zellen reagieren positiv (mononukleäre Zellen).

3.3.7 Unspezifische Esterase H.u.W. (Abb. 44-46)

An Hand der Enzymreaktion sind die Leydigzellen als alleinige Zellen mit einer kräftigen, positiven Reaktion zu sehen. Auch die fibroblastenähnlichen Zellen, die im Zuge der Differenzierung zu Leydigzellen werden, verhalten sich reaktiv. Die enzymatische Aktivität aller übrigen Strukturen ist negativ.

Auch in den weiteren Entwicklungsabschnitten eignet sich dieses Enzym vorzüglich zur selektiven Darstellung der Leydigzellpopula-

tion. Es zeigt sich, daß die Leydigzellverteilungsmuster bei unspezifischer Esterase und NADH-T-Reductase sehr gut übereinstimmen.

3.3.8 Fettfärbung mit Sudanschwarz-B

Entwicklungsphase mit soliden Tubuli: (Abb. 47-48)

Das substrathistochemische Bild zeigt einzelne oder kleine Gruppen von Leydigzellen, die wenige, kleine Lipidtropfen enthalten. Leydigzellen in den Trabeculae testis enthalten deutlich mehr Lipide. Dies ist wahrscheinlich auf einen unterschiedlichen Differenzierungsgrad der Leydigzellen zurückzuführen. Am Ende dieser Phase ist ein deutlicher Rückgang dieser lipidhaltigen Zellen im intertubulären Areal zu verzeichnen und nur mehr sehr wenige Leydigzellen enthalten kleinste Lipidtropfen. Dieses Bild ändert sich in der weiteren Entwicklung nicht mehr.

Phase der pubertären Tubulusentwicklung: (Abb. 49)

In diesem Stadium liegen in den Sertolizellen relativ große, zum meist basale Fettröpfchen, die annähernd die Größe von Spermatidenkernen erreichen.

Adulte Phase: (Abb. 50)

In den Tubuli treten neben basalen mittelgroßen Lipidtropfen auch apikal kleine Granula in Erscheinung. Ihr Auftreten ist in den einzelnen Tubulusanschnitten variabel, was auf eine Phasenabhängigkeit hindeutet.

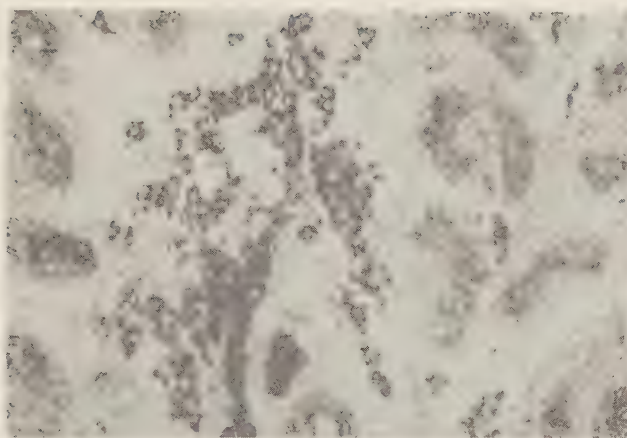


Abb.22 NADH-T-Red., $\times 225$, Entwicklungsphase mit soliden Tubuli (11 Tage): Haufen von polygonalen Leydigzellen mit starker Reaktion finden sich in den Trabeculae testis v.a. in Gefäßnähe (adventitielle Leydigzellen).

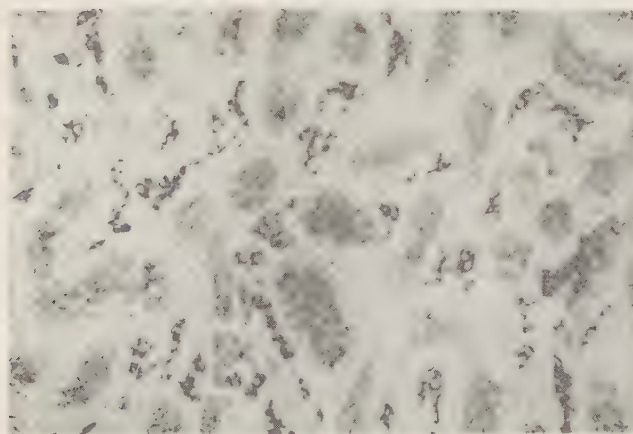


Abb.23 NADH-T-Red., $\times 225$, Entwicklungsphase mit soliden Tubuli (30 Tage): Gruppen von intertubulären Leydigzellen. Das Stütz-
zellplasma reagiert mittelgradig.

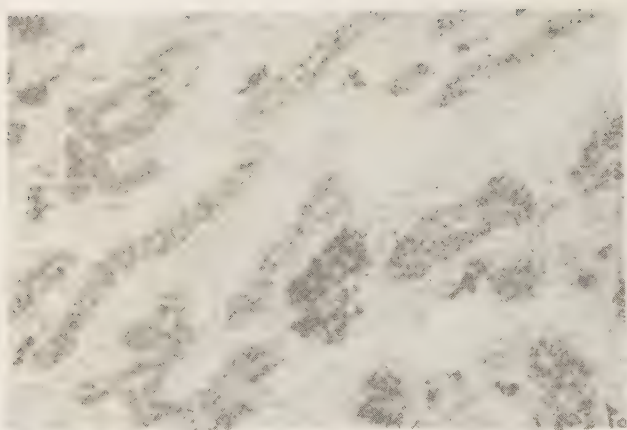


Abb. 24 NADH-T-Red., x 225, Mediastinum mit dem Rete testis: Das Reteepithel reagiert mittelgradig. Kräftige Reaktion in den einzeln oder in Gruppen liegenden mediastinalen Leydigzellen.

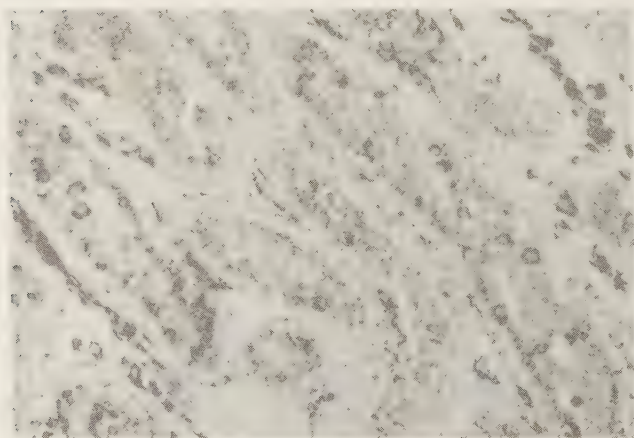


Abb. 25 NADH-T-Red., x 225, Entwicklungsphase mit soliden Tubuli (72 Tage): Die Keimzellen zeichnen sich hier durch große, helle Kerne und stark tingiertes Zytoplasma aus. Die in Tubulusnähe gelegenen Zwischenzellen nehmen eine flache und spindelförmige Gestalt an.

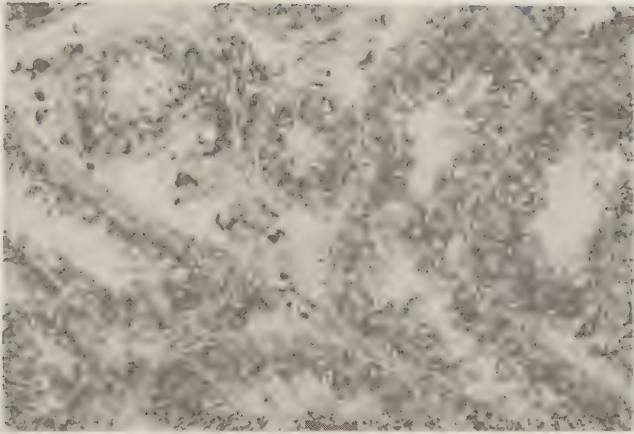


Abb. 26 NADH-T-Red., $\times 225$, Phase der pubertären Tubuluserwicklung (105 Tage): Die basalen Spermatogonien reagieren kräftiger als die restlichen Keimzellen. Im intertubulären Areal sind nur wenige, positive Zwischenzellen zu identifizieren.

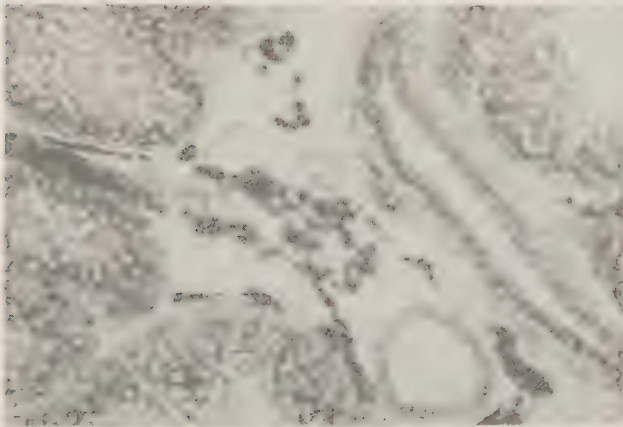


Abb. 27 NADH-T-Red., $\times 225$, Phase der pubertären Tubuluserwicklung (119 Tage): Trabeculum testis mit Tubulus rectus (Tr). Die stark positiven Zellen stellen perivaskuläre Leydigzellen dar.

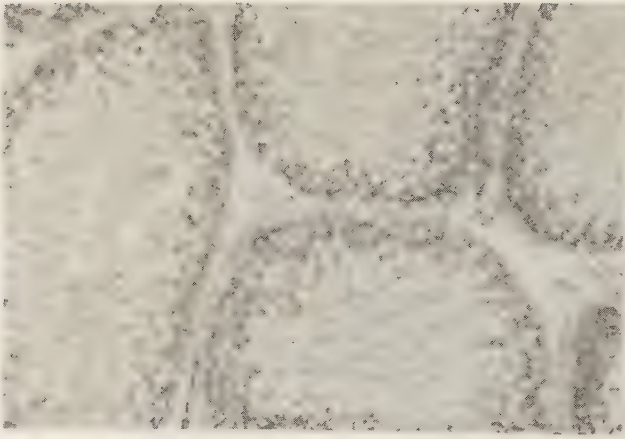


Abb.28 NADH-T-Red., $\times 225$, adulte Phase:
Die Tubuli seminiferi reagieren im basalen Abschnitt kräftig. In
adluminaler Richtung schwächt sich die Reaktion ab.

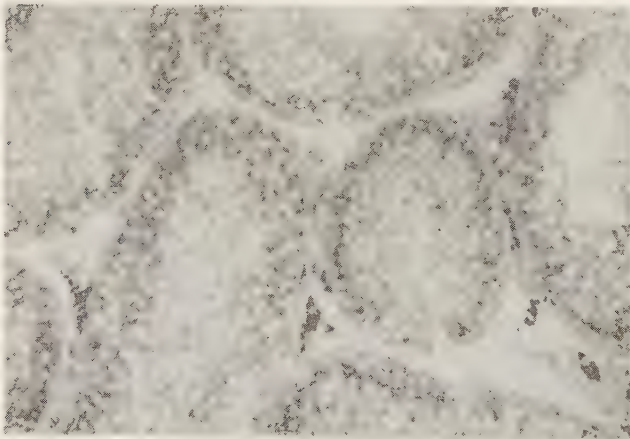


Abb.29 NADPH-T-Red., $\times 225$, Phase der pubertären Tubulusenwick-
lung: In Tubulusnähe liegen nur wenige kleine, spindelförmige,
positive Leydigzellen.

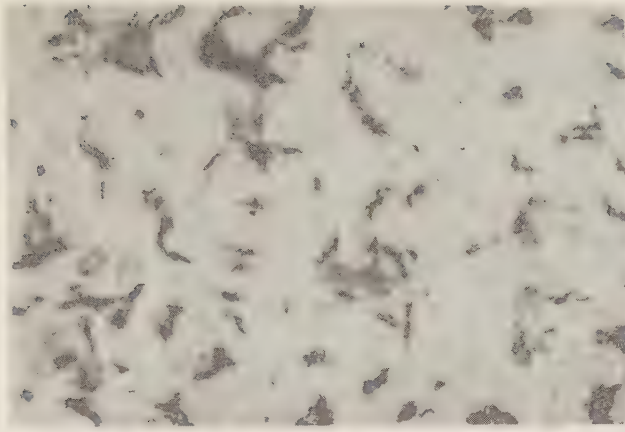


Abb.30 alk. Phase, $\times 140$, Entwicklungsphase mit soliden Tubuli (11 Tage): In den meisten intertubulären Arealen ist die Reaktion kräftig und ausgedehnt, in anderen Arealen ist sie negativ.

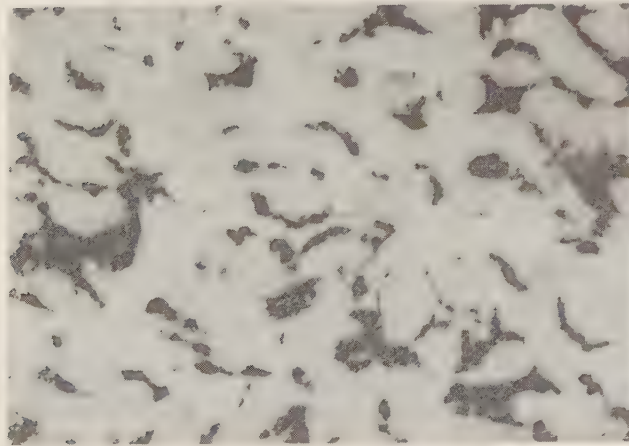


Abb.31 alk. Phase, $\times 140$, Entwicklungsphase mit soliden Tubuli (42 Tage): Große, positive Bezirke innerhalb des intertubulären Areals. Um die Tubuli treten erste, flache, positive peritubuläre Zellen hervor.

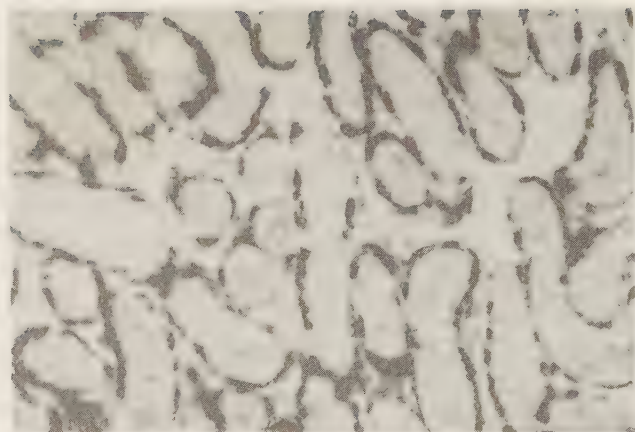


Abb.32 alk. P'ase, $\times 140$, Entwicklungsphase mit soliden Tubuli (72 Tage): Die peritubulären Zellen der Membrana propria werden zunehmend positiv. Die positive Reaktion im intertubulären Areal ist verschwunden.

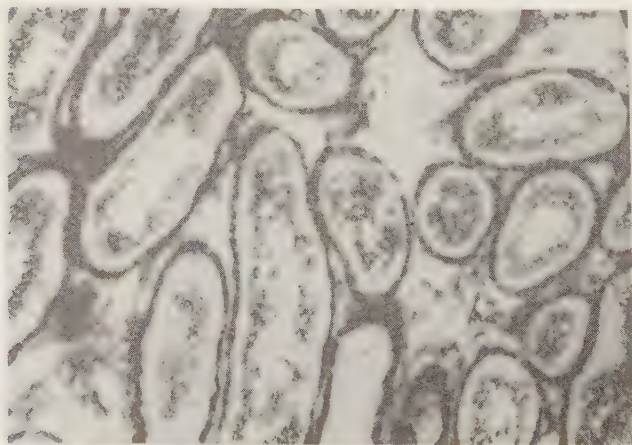


Abb.33 alk. P'ase, $\times 140$, Phase der pubertären Tubululentwicklung (105 Tage): Man sieht eine dicke, positive Zellmanschette um die Tubuli. Das apikale Keimepithel reagiert positiv. Hier liegen die Stützzellapices mit den Bündeln von Mikrotubuli und Filamenten.

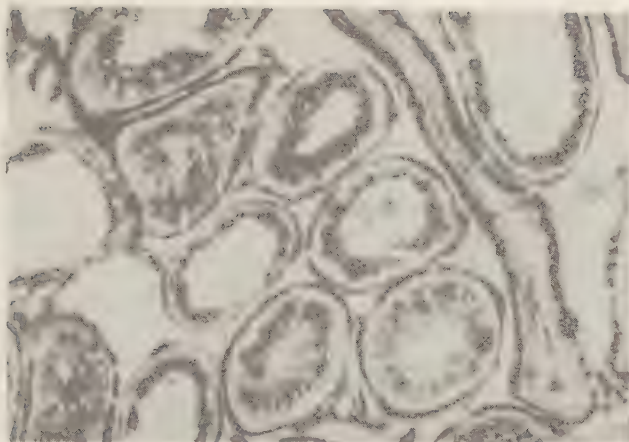


Abb.34 alk. P'ase, x 140, Phase der pubertären Tubululentwicklung (119 Tage): Auch die Lage der Zellen um die Tubuli recti (Myofibroblasten) zeigt sich positiv. Sonst wie Abb.12.

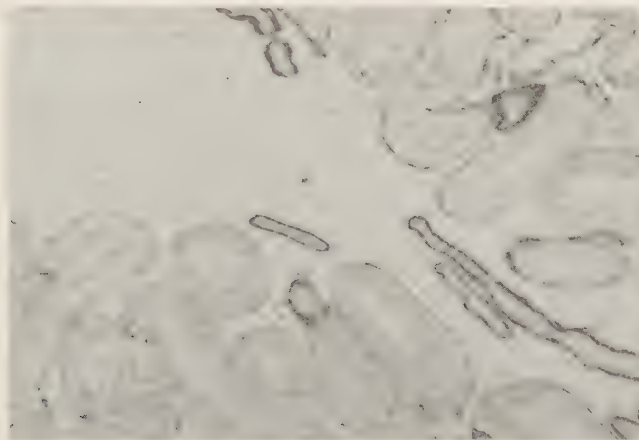


Abb.35 alk. P'ase, x 55, adulte Phase:
Die Reaktion im apikalen Keimepithel ist so gut wie verschwunden.
Die peritubuläre Lage erscheint flacher und reagiert abgeschwächt. Kräftig bleibt der Ausfall in den Myofibroblasten um die Tubuli recti.

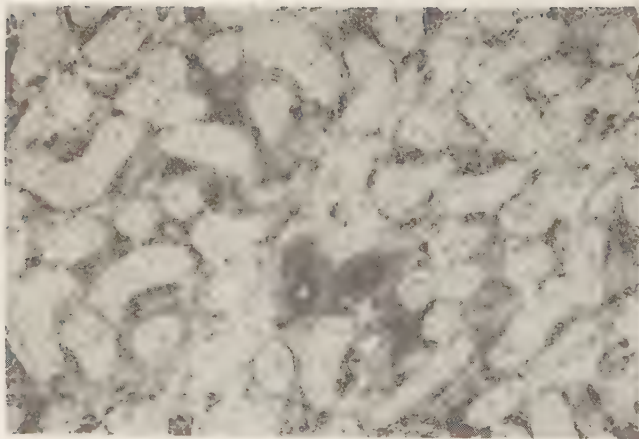


Abb.36 ATPase, x 140, Entwicklungsphase mit soliden Tubuli (11 Tage): Die Gefäßwandungen zeigen eine kräftige Aktivität. Die intertubulären Zellen geben eine diffuse Reaktion (+ bis ++).

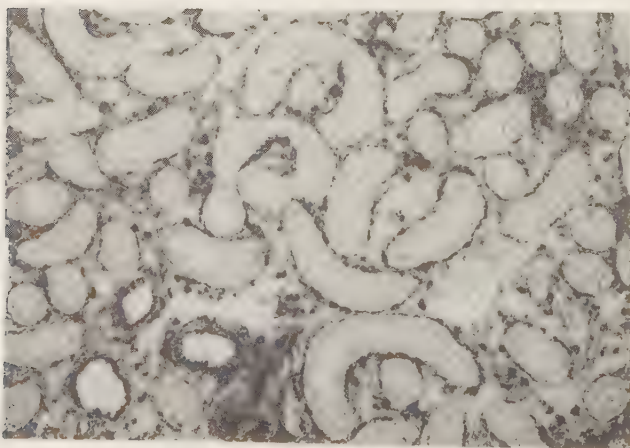


Abb.37 ATPase, x 140, Entwicklungsphase mit soliden Tubuli (54 Tage): Die peritubuläre Zellmanschette ist hier unterschiedlich stark angefärbt. Im intertubulären Areal sind positive Einzelzellen oder Kapillaren zu erkennen.

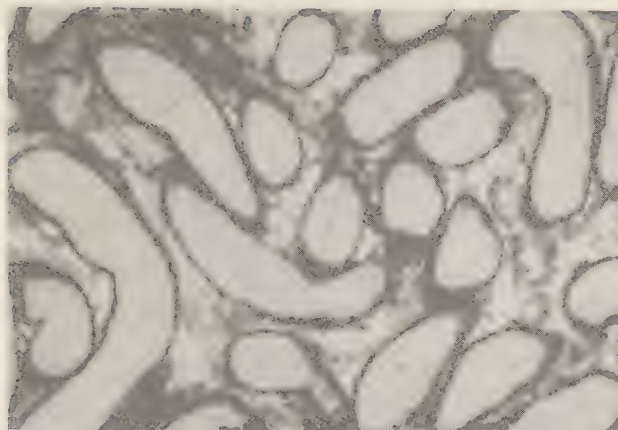


Abb.38 ATPase, x 140, Entwicklungsphase mit soliden Tubuli (98 Tage): Kurz vor dem Übergang in die pubertäre Entwicklungsphase zeigen die peritubulären Zellen in ihrer Reaktion einen Qualitätssprung.

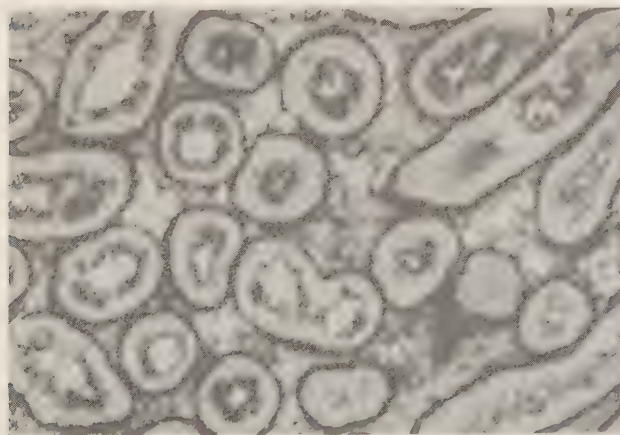


Abb.39 ATPase, x 140, Phase der pubertären Tubulumentwicklung: Neben der intensiven peritubulären Reaktion zeigt jetzt das apikale Tubulusepithel eine starke Aktivität.

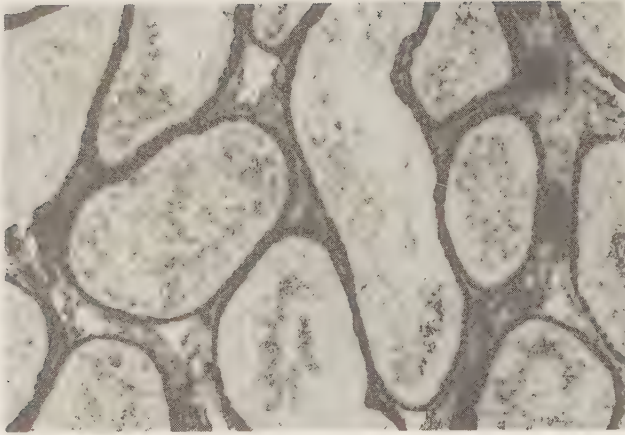


Abb.40 ATPase, x 140, adulte Phase:
Die abgeflachte Membrana propria bleibt extrem stark tingiert.
Die Reaktion im apikalen Tubulusepithel ist gegenüber Abb. 18 stark abgeschwächt.

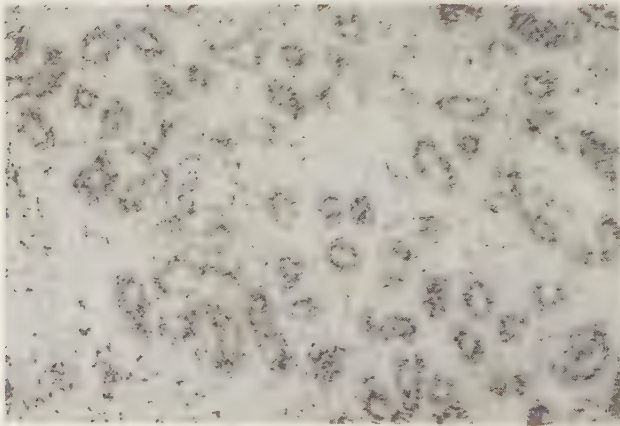


Abb.41 Saure P'ase, x 140, Entwicklungsphase mit soliden Tubuli (11 Tage): Einige intertubuläre Zellen zeigen punktförmige Reaktionen. Es handelt sich dabei um Makrophagen aus der mononukleären Reihe. Diffuse Reaktion in den Stützzellen der Tubuli.

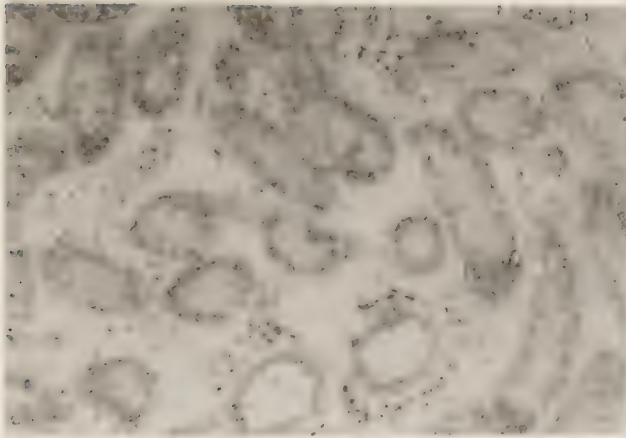


Abb.42 Saure P^hase, x 140, Entwicklungsphase mit soliden Tubuli (98 Tage): Die positiven intertubulären Komplexe haben zahlenmäßig und größenmäßig zugenommen. Ein Teil der reagierenden Zellen nimmt eine perivaskuläre Lage ein. Die Reaktionsintensität in den Tubuli nimmt zu. (Vergl. mit Abb.20)

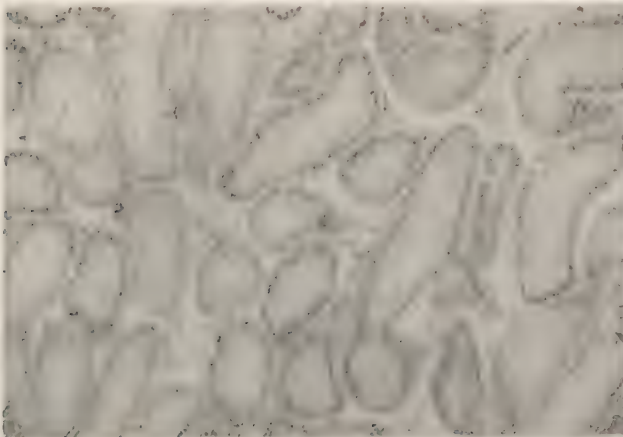


Abb.43 Saure P^hase, x 55, adulte Phase:
Die Sertolizellen zeigen selektiv eine basale Reaktion von großer Intensität. Einzelne intertubuläre Zellen enthalten stark positive Bezirke.

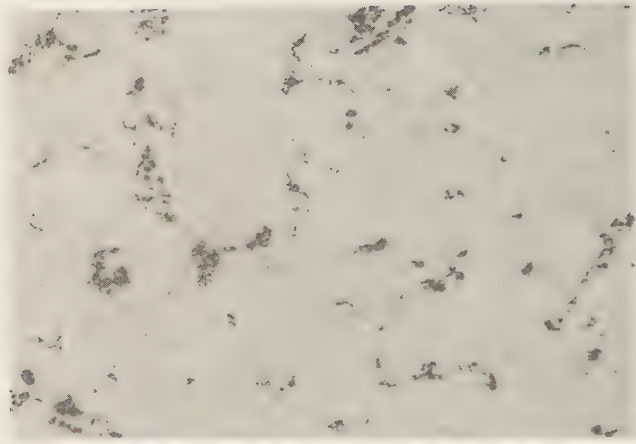


Abb.44 Unspez. Esterase H.-W., $\times 140$, Entwicklungsphase mit soliden Tubuli (47 Tage): Starke enzymatische Aktivität in den intertubulären, inhomogen verteilten Leydigzellen.



Abb.45 Unspez. Esterase H.-W., $\times 140$, Entwicklungsphase mit soliden Tubuli (98 Tage): Der Anteil der positiven Zellen zwischen den Tubuli ist stark reduziert. Dagegen ist eine Konzentration um die Gefäße zu beobachten.



Abb.46 Unspez. Esterase H.-W., x 140, adulte Phase:
Inhomogene Verteilung der positiven Leydigzellen im Lobulus testis eines adulten Hodens.

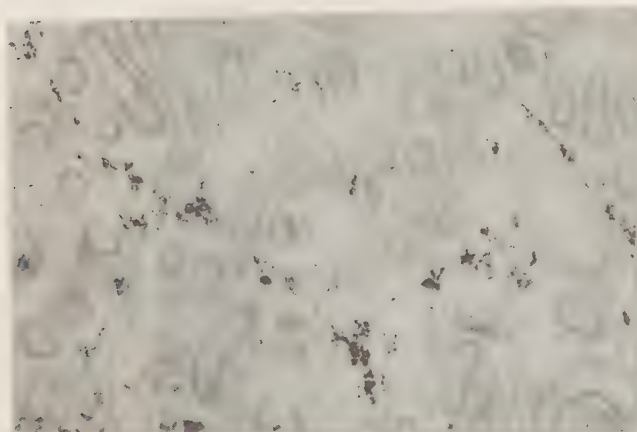


Abb.47 SSB, x 140, Entwicklungsphase mit soliden Tubuli (30 Tage): Einzelne oder kleine Gruppen von Leydigzellen enthalten Lipidtröpfchen.

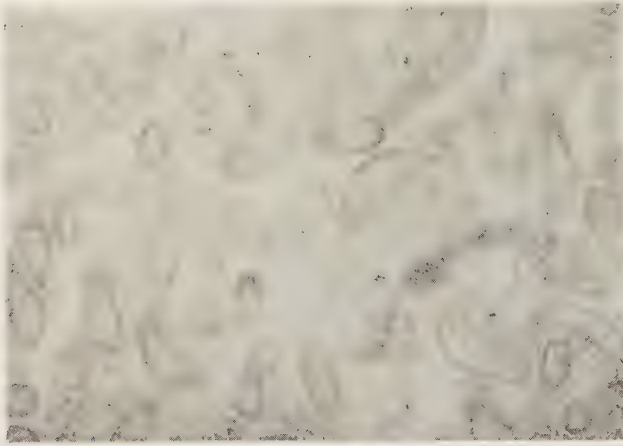


Abb.48 SSB, $\times$ 140, Entwicklungsphase mit soliden Tubuli (54 Tage): Gegen Ende des ersten Entwicklungsabschnittes ist ein deutlicher Rückgang der lipidhaltigen Zellen im intertubulären Areal zu verzeichnen.



Abb.49 SSB, $\times$ 140, Phase der pubertären Tubulumentwicklung: Im basalen Keimepithel liegen relativ große Fetttröpfchen.

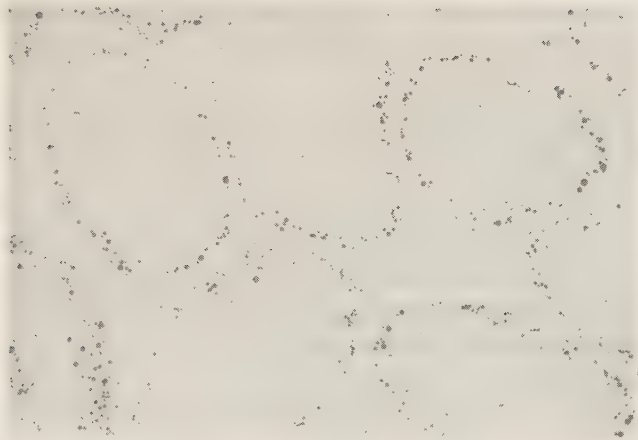


Abb.50 SSB, x 140, adulte Phase:
Neben den basalen Fetttröpfchen im Sertolizellplasma treten auch
apikal kleine Granula in Erscheinung.

3.4 Histometrische Befunde:

3.4.1 Prozentualer Anteil der Hodentubuli während der postnatalen Ontogenese (Tabellen 3,9; Abb.51,52):

Der prozentuale flächenmäßige Tubulusanteil liegt zu Beginn der Entwicklung bei $52 \% \pm 5$. Nach einer leichten Abnahme in dem Bereich der Hodenvolumina zwischen 2,3 und 6 cm³ auf $48 \% \pm 4$, bedingt durch verstärkte Flüssigkeitseinlagerung in den intertubulären Raum, zeigt sich noch während der Phase mit soliden Tubuli ein Anstieg der tubulären Komponente auf $57,8 \% \pm 1$. Mit der Ausbildung von Lumina in den Tubuli nimmt deren Prozentanteil in der pubertären Phase um ca. 20 % zu. Danach treten keine signifikanten, quantitativen Veränderungen des tubulären Anteils (80-85 %) mehr ein.

3.4.2 Prüfung der Entnahmestellen (T/B,T/C,T/D) auf signifikante Unterschiede (Tabelle 3):

Zur Abklärung der Frage, ob in den 3 Entnahmestellen des Hodens eine gleichartige Verteilung der tubulären/intertubulären Komponenten vorliegt, wurde ein F-Test mit einem Signifikanzniveau von $\alpha = 5 \%$ durchgeführt. Die Nullhypothese, $H_0: T_B = T_C = T_D$, wird verworfen, wenn der praktische Wert $F >$ als der Tafelwert $F_{\alpha, F_{G1}, F_{G2}}$ ist; sonst müssen die Unterschiede zwischen den Stichproben als zufällig oder nicht signifikant angesehen werden. Die praktische Auswertung für sämtliche Meßwerte mit Hilfe des F-Testes ergibt:

$$F_{\text{praktisch}} = 1,98 \text{ und } F_{\alpha=5\%, F_{G1}, F_{G2}} = 3,07.$$

Wegen $1,98 < 3,07$ kann die Nullhypothese H_0 auf dem vorgegebenen Signifikanzniveau nicht verworfen werden. Die Meßwerte scheinen sich nicht signifikant zu unterscheiden.

Da bei subjektiver Betrachtung der regionalen, individuellen Meßgrößen der Eindruck entsteht, daß in dem Bereich der Hodenvolumina zwischen 5,45 und 16,3 cm³ dennoch signifikante regionale Unterschiede sein könnten, wurde die Auswertung auf diesen Bereich beschränkt.

Der F-Test ergab: $F_{\text{praktisch}} = 1,8$ und $F_{\alpha=5\%, F_{61}, F_{62}} = 3,23$

Auch in diesem Fall kann wegen $1,8 < 3,23$ die Nullhypothese nicht verworfen werden und die Unterschiede müssen auch hier statistisch gesehen wiederum als zufällig angesehen werden.

Zur Prüfung der Anwendbarkeit des Verfahrens wurden Vertrauensbereiche für die einzelnen Varianzen berechnet, welche die Anwendbarkeit und Gültigkeit des Testes (Aufstellung und Prüfung der Nullhypothese) bestätigen (Adam, 1972).

Auf Parameter wie Alterseffekt, Regionaleffekt und Tiereffekt (unterschiedlicher Entwicklungszustand des Tieres) wurde absichtlich verzichtet, um allgemein gültigere Aussagen machen zu können. Denn bei einer Berücksichtigung dieser Effekte (insbesondere der individuelle Einfluß des Tieres) würden die Varianzwerte noch näher beieinander liegen; die Nullhypothese könnte dann erst recht nicht abgelehnt werden.

Beziehung zwischen prozent.
Tubulusanteil und Hodenvolumen
(T%) (HV/cm³)

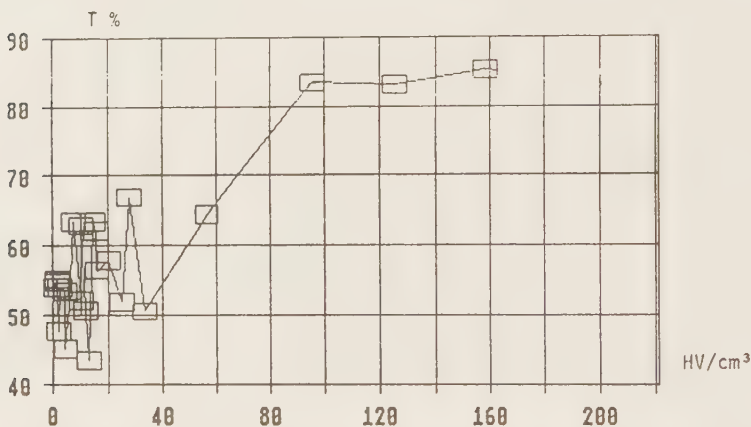


Abb.51 Die Beziehung zwischen Tubulusanteil und Hodenvolumen zeigt, daß sich der Tubulusanteil ab einem Hodenvolumen von 90 cm³ auf Werte um 80-85 % eingestellt hat. Liegt das Hodenvolumen unter 90 cm³, so ist mit erheblichen individuellen Schwankungen des Tubulusanteils zu rechnen, der Mittelwert des Tubulusanteiles liegt bei 55 % ± 10.

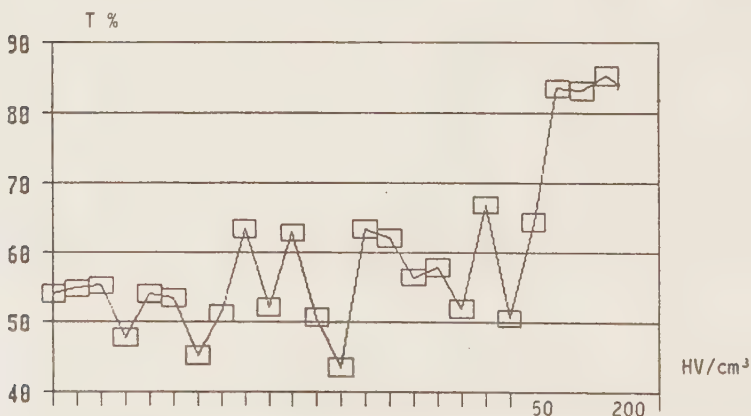


Abb.52 Hier handelt es sich um keine maßstabsgetreue graphische Darstellung. Es ist die HV (x-) Achse verzerrt, um den Bereich des Hodenvolumens zwischen 0,8 cm³ und 50 cm³, der viele Meßwerte enthält, optisch günstiger darzustellen.

3.4.3 Morphometrie des Tubulusdurchmessers (Tabellen 6,7,9):

Der Tubulusquerschnitt zeigt in der Wachstumsphase des Organs mit soliden Tubuli eine Zunahme um 50 %. Während die Werte anfangs im Durchschnitt 40 μm betragen, liegen sie gegen Ende dieses Entwicklungsabschnittes bei 80 μm . In den pubertären Entwicklungsphasen nehmen die Durchmesser deutlich zu und erreichen schließlich adulte Werte um 200 μm .

Die Tubulusdurchmesser unterscheiden sich in den einzelnen Regionen B, C und D bei Hodenvolumina über 25,42 cm^3 signifikant. Dies ist vor allem auf die unterschiedlich, einsetzende Lumenbildung in den Tubuli zurückzuführen.

3.4.4. Quantitatives Verhalten des intertubulären Areal als in der postnatalen Ontogenese (Tabelle 4):

Das intertubuläre Areal untergliedert sich in seine Bauelemente: ungeformte Matrix, kollagene Fasern, Nerven, Blut- und Lymphgefäße unterschiedlichen Kalibers und verschiedene Zellgruppen. Das intertubuläre Areal ergänzt sich mit den Tubuli seminiferi innerhalb der Lobuli testis auf den Wert 100 %.

Bei Lämmern mit einem Hodenvolumen kleiner als 6 cm^3 kann der flächenmäßige intertubuläre Anteil Werte von ca. 50 % erreichen.

3.4.5 Flächenmäßiger Anteil der Blut- und Lymphgefäße in den Lobuli testis (Tabellen 4,5,9):

Der Gesamtanteil der Gefäße an den Lobuli testis liegt bei Hodenvolumina von 0,89 bis 2,26 cm^3 ziemlich niedrig: Mittelwert und Standardabweichung betragen 1,55 % $\pm$ 0,9. Ab einem Hodenvolumen von 2,3 cm^3 steigen diese Werte auf ca. 5 % und zeigen bis zur adulten Phase keine nennenswerten, prozentualen Verschiebungen mehr. Der Anteil der Lymphgefäße liegt dabei um ca. 1 % über dem der Blutgefäße. Der flächenmäßige Anteil der Kapillaren liegt stets unter 1 % und wurde daher in die Rubrik Blutgefäße integriert.

3.4.6 Flächenmäßiger Anteil der intertubulären Zellen (Tabellen 4,9,10):

Intertubuläre Zellen sind beim neugeborenen Schaf relativ reichlich vorhanden. Ihr Anteil am Hodengewebe liegt p.n. bis zu einem Hodenvolumen von 2,3 cm³ bei 14,4 % $\pm$ 2,5. Noch in der Wachstumsphase mit soliden Tubuli fällt der flächenmäßige Anteil der Zellen auf ca. 7,7 % $\pm$ 0,4 ab. Gegen Ende der pubertären Entwicklungsphase, stellt sich schließlich ein morphometrisch ermittelter Zellanteil von 3 % - 4 % ein. Ab einem Hodenvolumen von ca. 4 cm³ bleibt der flächenmäßige Anteil der peritubulären Zellen mit 2,3 % $\pm$ 0,5 annähernd konstant.

Betrachtet man den flächenmäßigen Anteil von Zellen am intertubulären Areal alleine, so beträgt dieser bei einem Hodenvolumen unter 2,3 cm³ etwa 30 %, bei Volumina über 2,3 cm³ im Mittel 20 % $\pm$ 2. An diesem Zellanteil partizipieren die peritubulären Zellen in der Wachstumsphase mit soliden Tubuli mit 5%, in der pubertären Tubulusphase mit 5% bis 13 % und in der adulten Phase mit etwa 15 %.

3.4.7 Flächenmäßiger Anteil der Leydigzellen (Tabellen 8,9,10):

Ihr flächenmäßiger Anteil im Lobulus testis variiert zwischen 2,5 und 0,5 %, wobei die Werte mit zunehmendem Hodenvolumen abnehmen. Tabelle 8 zeigt die prozentualen Werte der Leydigzellen, die an 12 Hoden ermittelt und dem Hodenvolumen nach geordnet wurden. Vergleicht man diese Werte mit dem prozentualen Anteil der Leydigzellen am intertubulären Areal, so lassen sich ebenfalls langsam, kontinuierlich, fallende Werte von 5,3 % auf 3,4 % konstatieren. Der Leydigzellanteil im Lobulus testis des Schafes ist also außerordentlich niedrig.

3.4.8 Numerische Erfassung der 4 intertubulären Zelltypen (Tabelle 11):

Die numerisch ermittelten Anteile der Leydig- wie der mononukleären Zellen lagen durchgehend fast konstant bei 9 %.

Das Verhältnis dieser beiden Zellen ist daher mit 1:1 anzusetzen. Die Bindegewebszellen stellen bis zu einem Hodenvolumen von 2,3 cm³ mit ca. 80 % die größte Zellgruppe. In der Folgezeit differenzieren sich aus fibroblastenähnlichen Zellen peritubuläre Zellen und Leydigzellen in einem schnelleren Maße, als die zahlenmäßige Regeneration der Fibroblastenpopulation erfolgt. Der Pool der Bindegewebszellen reduziert sich dadurch von 80 % auf 40 bis 35 %, der zahlenmäßige Anteil der peritubulären Zellen steigt dementsprechend etappenweise auf Werte um 45 %.

1fd.Nr.	HV cm ³	T/B %	T/C %	T/D %	T %	Sigma %	max-min %
1	0,89	56,74	54,95	54,53	55,40	0,96	1,03
2	1,43	51,40	54,74	58,36	54,83	2,84	6,96
3	1,66	54,75	55,78	55,17	55,22	0,42	1,03
4	1,95	52,49	52,15	56,20	53,61	1,83	4,05
5	2,26	52,02	56,20	53,73	53,99	1,72	4,18
6	2,26	40,14	43,30	41,85	41,76	1,29	3,16
7	3,78	46,01	42,20	48,38	45,50	2,55	6,18
8	4,58	51,38	53,73	55,21	53,44	1,58	3,83
9	5,45	37,10	42,63	53,31	44,34	6,73	1,03
10	6,07	50,58	49,50	53,50	51,19	1,69	1,03
11	7,60	60,00	62,40	67,90	63,44	3,31	1,03
12	7,60	53,42	50,84	52,74	52,34	1,09	1,03
13	8,62	61,16	65,90	63,97	63,71	1,95	1,03
14	11,45	34,90	44,89	49,27	43,02	6,01	1,03
15	12,11	57,35	63,50	65,65	62,17	3,52	1,03
16	12,39	55,40	55,40	64,10	58,32	4,10	1,03
17	12,98	46,12	52,50	55,44	52,02	3,89	1,03
18	13,21	39,16	47,50	43,40	43,36	3,40	1,03
19	14,16	61,16	66,60	69,40	65,77	3,42	1,03
20	15,27	59,10	61,90	62,70	61,20	1,54	1,03
21	15,27	56,79	53,40	75,75	62,17	9,83	1,03
22	16,29	53,87	63,97	68,57	62,14	6,14	1,03
23	16,30	53,62	53,74	62,16	56,50	4,00	1,03
24	18,85	52,73	60,12	56,90	56,58	3,03	1,03
25	21,98	55,09	61,03	61,47	59,19	2,91	6,38
26	25,42	50,16	51,70	53,87	51,91	1,52	3,71
27	26,81	64,42	62,40	68,35	65,05	2,47	5,95
28	29,50	67,67	70,03	69,58	69,09	1,02	2,36
29	33,45	40,46	52,18	58,92	50,52	7,63	18,46
30	54,22	67,67	65,88	65,90	66,51	0,84	1,79
31	58,79	60,94	63,63	63,00	62,51	1,15	2,69
32	93,97	80,47	81,59	82,60	81,55	0,87	2,13
33	96,27	81,93	86,53	87,65	85,37	2,48	5,72
34	125,06	79,69	84,40	85,00	83,05	2,37	5,31
35	157,81	87,54	83,83	84,62	85,33	1,60	3,71

Tabelle 3: (nach Hodenvolumen geordnet) zeigt den flächenmäßig ermittelten prozentualen Tubulusanteil, wobei T/B, T/C und T/D die prozentualen Ergebnisse der jeweiligen Entnahmestelle, T den ermittelten prozentualen Wert des Tubulusanteiles pro ausgemessenen Hoden, Sigma die Standardabweichung der Regionen B, C, D und "max-min" die maximale, prozentuale Abweichung/Differenz aus T/B u./o. T/C u./o. T/D repräsentieren.

lfd.Nr.	I.A. %	M. %	G. %	Z. %
1	44,60	29,13	1,19	14,28
2	45,17	29,94	1,38	15,85
3	44,78	27,55	0,49	16,74
4	46,39	32,90	1,96	11,65
5	46,01	28,29	1,12	16,60
6	58,54	45,31	3,17	11,06
7	54,50	38,84	5,08	10,54
8	46,56	25,84	7,29	13,43
9	55,66	40,67	5,72	10,10
10	48,81	36,90	2,09	10,20
11	36,56	24,32	3,29	9,95
12	47,66	33,23	4,89	10,54
13	36,28	24,27	5,27	6,73
14	56,98	44,93	4,60	7,44
15	37,82	26,37	4,71	6,73
16	41,68	29,26	5,08	7,34
17	47,98	35,06	3,82	9,64
18	56,64	42,42	4,92	10,30
19	34,23	23,16	4,97	6,09
20	38,80	27,60	4,52	6,68
21	37,83	23,99	6,09	7,75
22	37,86	23,79	5,61	8,46
23	43,50	28,10	5,57	9,83
24	43,42	30,32	5,79	7,31
25	40,81	25,35	7,31	8,15
26	48,09	35,68	5,89	6,60
27	34,95	21,43	6,50	6,99
28	30,91	18,81	6,21	5,87
29	49,48	35,45	6,13	7,90
30	33,48	22,67	4,78	6,02
31	37,49	21,75	8,31	7,42
32	18,45	7,51	6,09	4,82
33	14,63	5,38	6,08	3,17
34	16,95	8,08	5,38	3,47
35	14,67	6,84	4,71	3,105

Tabelle 4: Flächenmäßiger Anteil des intertubulären Areals (I.A.) bzw. der intertubulären Elemente: Matrix (M), Gefäße gesamt (G), Zellen gesamt (Z).

lfd.Nr.	G. %	B. %	L. %
1	1,19	0,48	0,71
2	1,38	0,37	1,01
3	0,49	0,07	0,41
4	1,96	0,78	1,19
5	1,12	0,45	0,67
6	3,17	1,79	1,38
7	5,08	1,83	3,25
8	7,29	2,46	4,82
9	5,72	1,83	3,89
10	2,09	0,33	1,75
11	3,29	1,04	2,24
12	4,89	0,56	4,33
13	5,27	2,91	2,35
14	4,60	0,82	3,77
15	4,71	1,83	2,88
16	5,08	2,32	2,76
17	3,82	0,63	3,19
18	4,92	1,22	3,70
19	4,97	2,54	2,43
20	4,52	1,49	2,95
21	6,09	2,43	3,66
22	5,61	1,87	3,74
23	5,57	2,39	3,17
24	5,79	2,58	3,21
25	7,31	2,42	4,88
26	5,89	1,85	4,04
27	6,50	2,43	4,07
28	6,21	2,31	3,89
29	6,13	2,24	3,89
30	4,78	2,69	2,09
31	8,31	3,69	4,62
32	6,09	2,54	3,55
33	6,08	3,03	3,03
34	5,08	3,25	2,13
35	4,71	1,87	2,84

Tabelle 5: Aus dieser Tabelle ist der prozentuale Gefäßanteil (G) und dessen Aufgliederung in arterielle, venöse, kapillare (B)- und lymphatische (L)- Gefäße zu ersehen.

lfd.Nr.	HV	B	C	D	S _B	S _C	S _D
1	0,89	40,137	38,520	39,170	2,707	2,082	2,168
2	1,43	41,160	40,574	37,534	1,859	1,843	1,877
3	1,66	44,075	44,687	42,511	3,358	2,137	2,210
4	1,95	41,380	41,487	41,271	2,054	2,400	2,146
5	2,26	38,810	36,969	37,607	3,240	4,142	2,042
6	2,26	40,487	40,468	39,065	2,188	1,992	2,088
7	3,78	51,608	51,052	52,460	3,121	2,902	3,250
8	4,58	46,233	45,940	45,370	2,559	2,547	3,132
9	5,45	50,170	48,964	52,726	2,694	2,567	2,995
10	6,07	54,947	52,764	55,050	3,337	2,563	3,214
11	7,60	63,670	56,252	60,857	6,546	3,916	3,902
12	7,60	54,286	53,395	51,673	2,635	3,023	2,515
13	8,62	90,741	82,656	78,682	6,193	5,962	5,610
14	11,45	54,568	57,498	55,768	3,487	3,905	2,922
15	12,11	92,881	96,152	89,274	6,037	6,458	5,938
16	12,39	57,127	58,088	59,410	3,000	2,954	3,467
17	12,98	55,450	53,213	53,130	2,916	2,300	3,502
18	13,21	54,321	51,312	52,689	3,192	3,054	2,741
19	14,16	103,067	94,646	95,124	10,328	7,840	6,951
20	15,27	86,483	92,479	82,876	5,718	6,550	5,754
21	15,27	75,426	78,654	88,157	4,874	5,068	4,424
22	16,29	72,143	77,127	85,132	4,144	4,430	4,021
23	16,30	63,667	63,918	66,527	3,900	4,622	5,107
24	18,85	72,496	78,267	79,933	7,367	6,116	5,988
25	21,98	74,181	78,742	84,103	5,399	6,430	8,107
26	25,42	94,617	86,419	102,960	7,377	6,220	8,165
27	26,81	129,132	113,905	109,832	11,412	10,919	10,990
28	29,50	116,642	116,326	112,800	11,178	9,478	10,149
29	33,45	61,025	64,567	63,653	4,247	4,358	3,867
30	54,22	129,895	131,425	129,400	18,068	13,859	12,406
31	58,79	126,195	125,189	123,316	8,606	8,025	11,160
32	93,97	202,775	207,944	205,352	11,746	13,650	11,439
33	96,27	216,639	198,017	195,826	19,769	15,222	9,770
34	125,06	182,307	180,039	167,540	17,993	15,799	16,553
35	157,81	203,095	201,609	176,014	21,145	18,150	16,594

Tabelle 6: Tubulusedurchmesser in den Regionen B, C und D und die jeweiligen Standardabweichungen S_B, S_C, S_D

lfd.Nr.	HV	B	C	D	T	Sigma
1	0,89	40,1	38,5	39,2	39,37	0,65
2	1,43	41,2	40,6	37,5	39,8	1,62
3	1,66	44,1	44,7	42,5	43,8	0,93
4	1,95	41,4	41,5	41,3	41,4	0,08
5	2,26	38,8	37,0	37,6	37,8	0,75
6	2,26	40,5	40,5	39,1	40,0	0,66
7	3,78	51,6	51,1	52,5	51,7	0,58
8	4,58	46,2	45,9	45,4	45,8	0,33
9	5,45	50,2	49,0	52,7	50,6	1,5
10	6,07	55,0	52,8	55,1	54,3	1,1
11	7,60	63,7	56,3	60,9	60,3	3,1
12	7,60	54,3	53,4	51,7	53,1	1,1
13	8,62	90,7	82,7	78,7	84,0	4,9
14	11,45	54,6	57,5	55,8	55,9	1,2
15	12,11	92,9	96,2	89,3	92,8	2,8
16	12,39	57,2	58,1	59,4	58,2	0,9
17	12,98	55,5	53,2	53,1	53,9	1,1
18	13,21	54,3	51,3	52,7	52,8	1,2
19	14,16	103,1	94,7	95,1	97,6	3,9
20	15,27	86,5	92,5	82,9	87,3	3,9
21	15,27	75,4	78,7	88,2	80,8	5,4
22	16,29	72,1	77,1	85,1	78,1	5,3
23	16,30	63,7	63,9	66,5	64,7	1,3
24	18,85	72,5	78,3	79,9	76,9	3,2
25	21,98	74,2	78,7	84,1	79,0	4,1
26	25,42	94,6	86,4	103,0	94,7	6,7
27	26,81	129,1	113,9	109,8	117,6	8,3
28	29,50	116,6	116,3	112,8	115,3	1,7
29	33,45	61,0	64,6	63,7	63,1	1,5
30	54,22	129,9	131,4	129,4	130,2	0,8
31	58,79	126,2	125,2	123,3	124,9	1,2
32	93,97	202,8	207,9	205,4	205,4	2,1
33	96,27	216,6	198,0	195,8	203,5	9,3
34	125,06	182,3	180,0	167,5	176,6	6,5
35	157,81	203,1	201,6	176,0	193,6	12,4

Tabelle 7: B, C und D kennzeichnen den Tubulusdurchmesser in den entsprechenden Regionen, T den gemittelten Tubulusdurchmesser und Sigma die Standardabweichung von B, C und D.

lfd. Nr.	Hodenvolumen cm ³	Leydigzellanteil %
1	0,89	2,2
2	1,43	2,5
3	1,66	2,5
10	6,07	2,14
21	15,27	1,39
23	16,3	1,65
24	18,85	1,53
27	26,81	1,14
31	58,79	1,19
33	96,27	0,5
34	125,06	0,5
35	157,81	0,5

Tabelle 8: Volumetrische Auswertung der Leydigzellpopulation in der intertubulären Region (15 x 900 Punkte pro Hoden)

	Tubulus- anteil in %	Tubulusdurch- messer in μm	Matrix- anteil in %	Zellen gesamt in %
I	52,5 $\pm$ 5	40,32 $\pm$ 2	32,2 $\pm$ 6	14,4 $\pm$ 2,5
II	48,6 $\pm$ 4	50,6 $\pm$ 3	35,5 $\pm$ 6	11,0 $\pm$ 1,5
III	57,4 $\pm$ 7,3	70,7 $\pm$ 7	29,7 $\pm$ 7	8,3 $\pm$ 1,5
IV	57,8 $\pm$ 1,3	77,9 $\pm$ 1,05	27,8 $\pm$ 2,5	7,7 $\pm$ 0,4
V	60,9 $\pm$ 7	107,0 $\pm$ 23	25,9 $\pm$ 6,8	6,8 $\pm$ 0,7
VI	83,3 $\pm$ 1,6	195,0 $\pm$ 13	6,99 $\pm$ 1,2	3,82 $\pm$ 0,7
VII	85,33	195,57	6,84	3,105
	Gefäße gesamt in %	Blut- gefäße in %	Lymph- gefäße in %	Leydig- zellen in %
I	1,55 $\pm$ 0,9	0,66 $\pm$ 0,5	0,9 $\pm$ 0,35	2,4 $\pm$ 0,17
II	5,0 $\pm$ 2	1,6 $\pm$ 0,8	3,4 $\pm$ 1,2	2,14
III	4,8 $\pm$ 0,7	1,7 $\pm$ 0,7	3,16 $\pm$ 0,6	1,5 $\pm$ 0,13
IV	6,5 $\pm$ 0,7	2,5 $\pm$ 0,1	4,0 $\pm$ 0,83	1,53
V	6,3 $\pm$ 1	2,5 $\pm$ 0,6	3,7 $\pm$ 0,8	1,16 $\pm$ 0,03
VI	5,85 $\pm$ 0,3	2,9 $\pm$ 0,3	2,9 $\pm$ 0,6	0,5
VII	4,71	1,87	2,84	0,5

Tabelle 9: Die römischen Ziffern kennzeichnen die jeweiligen Entwicklungsphasen und die dazugehörige Bandbreite der Hodenvolumina.

I: 0,89 - 2,3 cm^3 ; II: 2,3 - 6,0 cm^3 ; III: 7,6 - 16,3 cm^3
IV: 18,8 - 22,0 cm^3 ; V: 25,4 - 58,8 cm^3 ; VI: 94,0 - 125,0 cm^3
VII: ab 158,0 cm^3

	Zellanteil im Lobulus testis in %	Leydigzellanteil im Lobulus testis in %
I:	14,4 ± 2,5	2,4 ± 0,17
II:	11,0 ± 1,5	2,14
III:	8,3 ± 1,5	1,5 ± 0,13
IV:	7,7 ± 0,4	1,53
V:	6,8 ± 0,7	1,16 ± 0,03
VI:	3,82 ± 0,7	0,5
VII:	3,105	0,5
	Zellanteil im inter- tubulären Areal in %	Leydigzellanteil im intertubulären Areal in %
I:	30 ± 5	5,3 ± 0,3
II:	21 ± 3	4,38
III:	19,5 ± 3	3,65 ± 0,2
IV:	18,2 ± 0,09	3,5
V:	18 ± 0,01	3,2 ± 0,04
VI:	22,8 ± 0,04	3,15 ± 0,3
VII:	21,1	3,4

Tabelle 10: Zum Vergleich: Der Anteil der Zellen im Lobulus testis und der Zellanteil im intertubulären Areal.

lfd.Nr.	LZ %	BG %	M %	PZ %
1	8,5	80,5	10,91	—
2	8,21	80,54	11,24	—
3	8,85	79,97	11,42	—
4	12,1	75,03	12,7	—
5	8,24	79,39	12,36	—
6	10,46	79,36	10,16	—
7	10,2	52,4	8,67	28,5
8	8,82	63,13	9,6	18,3
9	8,9	64,5	8,3	18,21
10	10,25	52,9	8,23	28,6
11	9,8	41,9	8,03	40,1
15	9,03	40,0	8,26	42,6
16	7,98	40,5	8,13	43,3
17	9,3	46,0	9,4	35,1
18	9,7	41,2	9,6	39,41
19	9,15	35,0	8,59	47,1
20	8,25	34,5	8,25	48,0
21	9,3	32,15	9,9	48,5
22	8,23	33,9	8,76	49,0
23	8,3	40,4	8,03	43,18
24	8,06	32,7	7,7	51,0
25	8,18	32,13	8,8	49,3
26	9,6	32,0	9,8	48,5
28	8,6	39,1	9,17	43,07
30	10,3	34,0	9,7	45,8
31	8,9	34,8	9,7	46,4
32	9,9	35,98	8,49	45,5
33	8,47	36,7	8,19	46,6
34	8,26	38,6	8,08	44,9
35	8,6	37,0	8,6	45,5

Tabelle 11: Numerische, quantitative Erfassung der intertubulären Zellen.

LZ: Leydigzellen
 BG: Bindegewebszellen (fibroblastenähnliche Zellen, Fibrozyten)
 M: mononukleäre Zellen
 PZ: peritubuläre Zellen

Mittelwert und Standardabweichung betragen bei den Leydigzellen $9,04 \% \pm 0,9$ und mononukleären Zellen $9,3 \% \pm 1,3.0$

4. Diskussion:

4.1 Korrelation der Parameter: Alter-Lebendgewicht-Hodenvolumen

Während der postnatalen Ontogenese besteht beim Schaf eine direkte lineare Beziehung zwischen dem Alter und dem Körpergewicht. Die Größen Hodenvolumen und Lebendgewicht stehen zueinander in engerer Relation als Hodenvolumen und Alter der Tiere. Diese Beobachtung bestätigt die Resultate anderer Autoren (Courot 1962, Dyrmondsson 1978, Watson et al. 1956).

Der anfangs nur sehr geringen Zunahme des Hodenvolumens folgt ab einem Körpergewicht von ca. 30 kg eine deutlich akzelerierte Wachstumsphase. Bei Courot (1962) setzt die gesteigerte Volumenzunahme bereits bei einem Lebendgewicht von ca. 20 kg ein. Die Feststellung von Watson et al. (1956), daß bei einer Körpergewichtszunahme von 23 auf 27 kg eine relative, maximale Hodengewichtszunahme erfolgt, kann weder von Courot (1962) oder Dyrmondsson (1978) noch in dieser Arbeit bestätigt werden.

4.2 Beziehungen zwischen Hodenvolumen, Entwicklungsgrad der Tubuli seminiferi und der intertubulären Region

Betrachtet man die histologische Ausdifferenzierung des Hodens beim Schaf, so sind zwischen dem Lebensalter und dem histologischen Reifegrad keine klaren Korrelationen festzustellen. Die Korrelationen zwischen dem Hodenvolumen und der Gonadendifferenzierung sind deutlicher.

Nach unseren Befunden ist die praepubertale Gonade durch ein Hodengewicht unter 22 cm³ gekennzeichnet. Da sie bei der Geburt unter 1 cm³ wiegt (Courot, 1962), macht sie in der praepubertalen Phase eine Volumenvergrößerung um über das 20-fache durch. An dieser Vergrößerung haben die beiden Hauptkomponenten des Hodens - Tubuli seminiferi und intertubuläres Gewebe - den wichtigsten Anteil.

Die Tubuli sind während der gesamten praepuberalen Periode (Entwicklungsphasen I bis IV) solide, ihre Durchmesser vergrößern sich aber in unserem Material von ca. 40 μ m in Entwicklungsphase I auf 77 μ m in Entwicklungsphase IV. Diese Zunahme des Durchmessers ist in erster Linie auf eine Vergrößerung und Streckung der Stützzellen zurückzuführen.

Während die Dickenzunahme der Tubuli in den ersten 4 Entwicklungsphasen kontinuierlich erfolgt, ist dies für das Längenwachstum der Tubuli nicht so offensichtlich. In Entwicklungsphase I stellen die Tubuli 52 %; in Entwicklungsphase II geht der prozentuale Tubulusgehalt besonders in den Regionen B und C leicht zurück, weil die ungeformte Matrix der intertubulären Region stark zugenommen hat, in den Phasen III und IV macht der Tubulusanteil 57 % aus. Für das Längenwachstum der Tubuli sind die mitotischen Teilungen der Stützzellen in erster Linie verantwortlich.

Keimzellen liegen in Entwicklungsphase I und II ausschließlich als Praespermatogonien vor. In Entwicklungsphase III treten erste Spermatogonien und sogar gelegentlich bereits Spermatozyten in den soliden Tubuli auf. Die Spermatozyten fallen aber in frühen Stadien der Prophase der ersten Reifeteilung einer Degeneration anheim. Entwicklungsphase IV markiert den Abschluß der praepuberalen Entwicklungsperiode mit soliden Tubuli. Spermatogonien sind nun häufig: Etwa 25 % bis 30 % aller Zellen in der basalen Kernreihe sind Spermatogonien. Sie haben sich zwischen den Stützzellen an der Basalmembran, also in physiologischer Position etabliert. Viele Stützzellkerne sind durch diesen Vorgang in eine mehr tubuluszentrale Lage abgedrängt und zeigen z.T. degenerative Veränderungen. Auch die seltenen Spermatozyten I. Ordnung dieser Entwicklungsphase IV degenerieren.

Durch die progressive Tubulusentwicklung ist der Matrixanteil im intertubulären Gebiet auf 28 %, der Zellanteil auf 8 % zurückgedrängt. Innerhalb des intertubulären Gebietes treten Kollagenfasern deutlich hervor.

Das herausragende, morphologische Ereignis während der histologischen Differenzierung des Hodens ist die Lumenbildung innerhalb der vorher soliden Tubuli seminiferi. Dies scheint eine unabdingbare Voraussetzung für das erfolgreiche Ablaufen spermatogenetischer Prozesse über das Niveau der Prophase der Meiose hinaus zu

sein. Innerhalb solider Tubuli scheinen die sporadischen Spermatozyten I. Ordnung alle einer Degeneration anheimzufallen, genauso wie Spermatogonien, wenn diese nicht in physiologischer Position in Kontakt mit der Basalmembran plaziert sind. Es ist erstaunlich, daß Courot (1962) in seiner Studie über die Ontogenese des Schafhoden den einschneidenden Prozeß der Lumenbildung überhaupt nicht erwähnt. Courot (1962) hätte allerdings lediglich immersionsfixiertes, paraffineingebettetes Material zur Verfügung, an dem es schwierig sein dürfte, artifizielle Spaltenbildungen von dem physiologischen Prozeß der Lumenbildung abzugrenzen. So läßt Courot (1962) die "période de maturité" bereits bei einem Hodengewicht von ungefähr 6 g beginnen, wenn er erstmalig eine Spermatogonie sieht und orientiert sich in der weiteren Entwicklung ausschließlich an dem ersten Auftreten von Zellen der Keimzellreihe. Hierbei berücksichtigt er nicht die Tatsache, daß Spermatogenesezellen in soliden Tubuli selten sind und häufig degenerieren.

Eine den physiologischen Abläufen im Hoden besser angepaßte Definition der pubertären Periode erscheint uns die zu sein, daß ihr Beginn mit der Lumenbildung innerhalb der Tubuli eingeleitet wird, daß sich während dieser Periode in allen Tubulusabschnitten eine erfolgreiche und ordnungsgemäße Spermatogenese etabliert. Das Ende der pubertären Entwicklungsphase und der Beginn der adulten Situation sind an Hand der Histologie so zu definieren, daß nun die Phasen des Keimepithelzyklus etabliert sind.

Nach unseren Untersuchungen beginnt diese pubertäre Entwicklungsphase bei einem Hodengewicht um ca. 25 cm³, bei einem Alter von über 100 Tagen. Die Tubuli haben mit Beginn der Lumenbildung einen Durchmesser von ca. 80 µm.

Die initiale Lumenbildung ist also nicht mit einer dramatischen Zunahme des Querschnittes der vorher soliden Tubuli verbunden.

Die gestreckten Apices der langen Stützzellen weichen stellenweise auseinander, hierdurch entstehen zuerst kleine zellfreie Lücken innerhalb der Tubuluszentren, die dann in der Folge konfluieren und größer werden. Dennoch erfolgt in der pubertären Entwicklungsphase eine zugige Querschnittsvergrößerung der Tubuli. Am Ende der Periode ist mit einem Durchmesser von ca. 195 µm das adulte Bild erreicht.

Die Ausdehnung der Tubuli führt zu einem prozentualen Rückgang des intertubulären Gebietes insbesondere der hier gelegenen Matrix, die als Platzhalter für die Tubulusexpansion dient. Am Anfang der pubertären Entwicklungsphase machen Tubuli ca. 61 %, die ungeformte Matrix ca. 26 % des Hodenvolumens aus, am Ende stellen die Tubuli ca. 83 %, die Matrixkomponente ca. 7 %.

Die Volumenzunahme der Tubuli im pubertären Hoden bedarf in Zukunft noch einer genaueren Analyse. Sie ist nur zum Teil auf das Entstehen von Lumina und dadurch bedingter Dickenzunahme der Tubuli zurückzuführen. Die Tubuli müssen sich auch in Längsrichtung vergrößern. Wie bei Courrot (1962) bereits erwähnt, scheinen aber die Stützzellen etwa bei einem Hodengewicht von 15 bis 20 g ihre Teilungsfähigkeit einzustellen. Auch nach unseren Beobachtungen setzt zu Beginn der pubertären Entwicklungsphase (Entwicklungsphase V) die Umwandlung von teilungsfähigen Stützzellen in postmitotische Sertolizellen ein. Dies wird auf lichtmikroskopischem Niveau dadurch erkenntlich, daß sich die Kernform ändert. Die vormals kugeligen Kerne strecken sich, bekommen unregelmäßige Konturen mit Fissuren, und ihr Chromatin verteilt sich gleichmäßig über den ganzen Kern. Ein großer, aber wenig dichter Nucleolus ist gelegentlich sichtbar. Das basale Zytoplasma enthält Lipidtropfen. Die langen gestreckten Zelleiber der Stützzellen vor der Lumenbildung flachen sich ab, verbreitern sich und lassen Vakuolen im Inneren erkennen. Die Reaktion auf saure Phosphatase steigt mit der Umwandlung von Stützzellen in Sertolizellen abrupt und stark an. Durch diese morphologischen Differenzierungen dürfte im Inneren des Tubulus das Milieu für die komplette Spermatogenese geschaffen sein.

4.3 Homogenität des Hodengewebes während der Ontogenese:

Untersuchungen Zeit beim Rind ergaben, daß während der postnatalen Ontogenese der Tubulusanteil in der subtunikalen Entnahmestelle D signifikant von den Entnahmestellen B und C differiert. Als Ursache hierfür wird ein höherer Vaskularisierungsgrad des zentralen und retenahen Hodenparenchyms diskutiert (Wrobel et al.

1988, Dostal 1988). Beim adulten Rinderhoden werden solche lokale Unterschiede nicht mehr gesehen. Signifikante, regionale Unterschiede in der Verteilung der beiden Hauptkomponenten (Tubuli, intertubuläre Region) konnten in dieser Arbeit nicht festgestellt werden. Jedoch ist anzumerken, daß bei einer statistischen Auswertung, deren Ergebnisse eine allgemein hinweisende Aussage macht, zahlreiche ermittelte Meßgrößen gepoolt werden und die einzelnen individuellen Werte insgesamt unberücksichtigt bleiben. Auch wenn hier keine erhebliche regionale Unterschiede in der Verteilung des prozentualen Anteils der Gewebekomponenten am Hodenparenchym festgestellt wurden, so kann für die individuelle Situation keine strikte, individuelle Homogenität postuliert werden. Dies ist vor allem von Bedeutung für Biopsieproben, die während der praepuberalen oder puberalen Phase entnommen werden. Die Auswertung mehrerer Entnahmestellen (B/C/D) eines einzelnen Individuums, auch wenn damit gegenüber einer testikulären Einzelgewebeprobe ein Mehraufwand von Arbeit und Zeit verbunden ist, führt zu einem erheblichen Zugewinn an Genauigkeit und Aussagekraft.

4.4 Das Verhalten der intertubulären Zellen in der postnatalen Ontogenese:

Die intertubuläre Komponente der Hodenlobuli setzt sich zusammen aus Matrix (ungeformte Matrix, Fasern), Gefäßen (Blut- und Lymphgefäßen) und intertubulären Zellen. Intertubulär gelegene Zellen sind Leydigzellen, Fibroblasten - Fibrozyten, mononukleäre Zellen (Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen).

Der prozentuale Flächenanteil aller zellulären Elemente ist in Entwicklungsphase I mit ca. 14 % relativ hoch, geht aber noch in den Phasen mit soliden Tubuli auf ca. 8 % zurück. Während der puberalen Entwicklungsphasen V und VI fällt der zelluläre Anteil auf 3 bis 4 % ab. Nur 0,5 % des Flächenanteils der Lobuli testis am Ende der puberalen Periode und im adulten Zustand entfällt auf Leydigzellen. Wenn man dagegen berücksichtigt, daß beim adulten Rind ca. 7 % des Hodenvolumens von Leydigzellen eingenommen wird (Ströbel, 1967) und beim Schwein die Leydigzellen im adulten Zustand 19 % ausmachen (Wröbel et al., 1973), so zeigt sich, daß

physiologisch ausreichende Testosteronkonzentrationen mit einer sehr unterschiedlich großen Leydigzellpopulation erreicht werden können. Berechnet man den zellulären Anteil am intertubulären Areal und nicht am gesamten Lobulus testis so liegt dieser am Anfang der postnatalen Entwicklung bei ca. 30 % und fällt schon in Entwicklungsphase II auf ca. 20 % ab, um bei diesem Wert während der weiteren Entwicklung konstant zu bleiben. Leydigzellen machen in der Entwicklungsphase I im intertubulären Areal ca. 5 % aus und gehen noch in den Phasen mit soliden Tubuli auf ca. 3,5 % zurück, um diesen Prozentanteil auch während der weiteren Entwicklung zu halten.

Neben den Flächenanteilen der intertubulären Zellen erschien uns die Ermittlung der numerischen Verschiebungen bei den intertubulären Zellen aufschlußreich.

Mononukleäre Zellen sind im intertubulären Gebiet des Lobulus Testis beim Schaf konstant mit ca. 9 % aller Zellen vertreten. Die mononukleären Zellen des Schafes gehören zwei verschiedenen Differenzierungslinien an. Man sieht einmal Lymphozyten. Diese liegen in Gefäßnähe und in der Membrana propria aber auch im übrigen intertubulären Bereich. Die andere auffällige Form sind kleine Makrophagen, welche durch ihre intensive Färbung im Semidünnschnitt und ihren unregelmäßig begrenzten Zelleib im Lichtmikroskop zu identifizieren sind.

Im Gegensatz zu diesen Verhältnissen beim Schaf entwickeln sich im Hoden des Rindes besondere Abkömmlinge der monozytären Linie zu organspezifischen Zellen (LIC = light intercalated cells), welche Hilfsfunktionen für die Leydigzellpopulation erfüllen (Wrobel et al., 1981).

Am Beginn der postnatalen Entwicklung machen relativ undifferenzierte fibroblastenähnliche Zellen ca. 80 % der intertubulären Zellen aus. Diese Population umfaßt auch solche Zellen, welche in peritubulärer Position angetroffen werden, aber noch keine Differenzierung zu typischen peritubulären Zellen erkennen lassen. Ferner ovalkernige, abgeflachte Zwischenformen zwischen fibroblastenähnlichen Zellen und Leydigzellen.

Im Zuge von Entwicklungsphase II lassen sich die ersten eindeutigen Vorläufer für peritubuläre Zellen durch Lage und Aussehen abgrenzen. Da sie nicht mehr der Fibroblastenfraktion zugerechnet

werden (Tabelle 11), verringert sich der Anteil derselben auf ca. 50 %. Im Verlauf der weiteren Ontogenese komplettiert sich die peritubuläre Zellmanschette zu einer 2 bis 3 schichtigen Lage und beansprucht ab der puberalen Phasen konstant 45 % des numerischen Zellgehaltes. Beim Rind machen die peritubulären Zellen zwischen 20 und 30 % der intertubulären Zellen aus (Dostal, 1988). Da die Membrana propria bei dieser Tierart grundsätzlich eine gleiche Zellmanschette bildet und auch die Tubulusdurchmesser bei beiden Spezies ähnlich sind, reflektiert der hohe Prozentanteil von 45 % peritubulärer Zellen die grundsätzliche Zellarmut des intertubulären Gebietes beim Schaf. Dementsprechend reduziert sich die Fraktion Bindegewebszellen auf 35 bis 40 %. Während sich also die numerischen Verschiebungen von Bindegewebszellen zu peritubulären Zellen gut in Tabelle 11 ablesen lassen, geht die Populationsdynamik der wichtigsten intertubulären Zellfraktion, der Leydigzellen, aus Tabelle 11 nicht eindeutig hervor.

Leydigzellen stellen während der gesamten postnatalen Entwicklungszeit numerisch ca. 9 % aller intertubulären Zellen im Lobulus testis. Neue Leydigzellen bilden sich während der Ontogenese einmal durch Differenzierung aus fibroblastenähnlichen Vorläuferzellen, wie Übergangsformen belegen. Zum anderen sieht man Leydigzellmitosen. In der Entwicklungsphase IV am Ende der Phase mit soliden Tubuli beobachtet man beim Schaf eine partielle Degeneration von Leydigzellen mit vakuolärer Umbildung des Zytoplasmas. All diese progressiven und regressiven Veränderungen laufen beim Schaf ziemlich diskret ab und treten bei der quantitativen Analyse nicht hervor. Berücksichtigt man die Größenzunahme des Hodens in der Ontogenese, so nehmen Leydigzellmasse und Leydigzellzahl trotz des relativen Rückganges des intertubulären Gewebes zwischen Geburt und adulter Lebensperiode beim Schaf in den Lobuli testis um das ca. 20-fache zu. Bei einem gleichbleibenden numerischen Leydigzellanteil von ca. 9 % während dieser Zeit, muß man folgern, daß Mitosen entweder von Leydigzellen oder fibroblastenähnlichen Vorläufern oder beiden Zellpopulationen für den Leydigzellnachschieb verantwortlich sind und auch den Verlust während der Degenerationsphase der Leydigzellen kurz vor der Lumenbildung kompensieren.

Für unsere adulte Formen finden wir Volumenanteile der Leydigzel-

len von 0,5 %. Dieser Wert kontrastiert mit dem Wert von $2,7 \% \pm 0,3$, den Lunstra und Schanbacher (1988) angeben. Ein Grund für diese Differenz liegt sicherlich darin, daß in der vorliegenden Arbeit alleine die Verhältnisse in den Lobuli testis Berücksichtigung fanden. Ein größerer Teil der Leydigzellen wird beim Schaf aber in den Trabeculae testis (trabekuläre Leydigzellen) und hier besonders in der Umgebung der größeren Arterien (adventitielle Leydigzellen) angetroffen. Die prozentuale Zusammensetzung des Gewebes innerhalb der Trabeculae testis wird Gegenstand einer weiteren Studie sein. Selbst nach Analyse dieser Trabeculae testis, steht die Gesamtmasse der Leydigzellen noch nicht exakt fest. In keiner der bisher erschienenen Arbeiten wurde auf die regelmäßige Existenz von Leydigzellen im Mediastinum testis des Schafes Bezug genommen.

4.5. Ontogenese der Membrana propria

Der Tubulus seminiferus wird peripher durch eine Membrana propria begrenzt. Sie besteht von innen nach außen aus folgenden Bestandteilen:

1. Basallamina des Keimepithels.

Diese besitzt bei Rind, Schaf und Ziege ultrastrukturell einen geschichteten Aufbau (Bustos-Obregón und Courot, 1974; Wrobel et al., 1979, 1988), in dem elektronendichte und elektronendurchlässigere Lagen aufeinanderfolgen.

2. Innere Verbindungsschicht aus ungeformter Matrix und fibrillärem Material.

3. Schicht der peritubulären Zellen.

Diese Zellen sind im adulten Zustand speziesspezifisch als glatte Muskelzellen oder als Myofibroblasten anzusprechen. Sie sind verantwortlich für peristaltische Tubuluskontraktionen, welche zusammen mit dem Sekretionsdruck den Tubulusinhalt (Tubulusflüssigkeit und immotile Hodenspermien) retewärts transportieren. In der postnatalen Ontogenese vollzieht sich eine Differenzierung dieser

kontraktilen Zellen aus mesenchym- oder fibroblastenähnlichen Vorläuferzellen.

Vergleichende Untersuchungen zur ontogenetischen Ausdifferenzierung der kontraktilen, peritubulären Zellen bei Maus (Ross, 1967), Ratte (Korman und Hovatta, 1973), Schwein (Dierichs und Wrobel, 1973), Kaninchen (Leeson und Forman, 1981) sowie Rind (Wrobel et al., 1988) haben für die einzelnen Säugetierspezies sehr eigene Entwicklungspläne offenbart. Es hat sich gezeigt, daß die morphologische Transformation nicht ausschließlich von FSH und Testosteron abhängig sein kann, wie dies von Bressler und Ross (1969) sowie Hovatta (1972) nach Untersuchungen am Rattenhoden postuliert worden ist.

4. Äußere Grenzschrift.

Diese besteht aus sehr flachen Fibrozytenlagen, welche von matrix- und kollagenreicher Interzellularsubstanz getrennt werden. Bei mangelhafter Fixierung (Immersion) mit Tubulusschrumpfung tritt innerhalb des Gefüges der äußeren Grenzschrift ein peritubulärer Spaltraum auf, welcher demonstriert, daß unter vitalen Bedingungen innerhalb der äußeren Grenzschrift der notwendige Verschiebespalt für individuelle Tubuluskontraktionen gelegen ist.

Angaben zur postnatalen Differenzierung der tubulären Membrana propria des Schafes liegen bisher lediglich von Bustos-Obregón und Courot (1974) vor. Nach diesen Autoren seien die kontraktilen peritubulären Zellen schon zum Zeitpunkt der Geburt voll differenziert und sollen sich während der weiteren Ontogenese praktisch nicht mehr ändern.

Obwohl die genaue zytologische Ausdifferenzierung von Lamina propria und peritubulärer Zellschicht nur mit dem Elektronenmikroskop verfolgt werden kann und einer solchen ultrastrukturellen Analyse hier nicht vorgegriffen werden soll, kann aufgrund unserer licht- und enzymhistochemischen Befunde gesagt werden, daß die Membrana propria der Hodentubuli des Schafes noch nach der Geburt eine Reihe von funktionsbezogenen, morphologischen Veränderungen durchläuft.

Am Anfang der postnatalen Entwicklung sind die soliden Tubuli von einer relativ dicken Basallamina umgeben. Dieser liegt außen noch

keine peritubuläre Zellmanschette an. Vielmehr erkennt man einzelne fibroblastenähnliche Zellen in engem Kontakt zur Lamina propria. Diese Zellen unterscheiden sich praktisch nicht von den übrigen fibroblastenähnlichen Zellen, welche als Vorläufer von Leydigzellen und Fibrozyten die dominierende Zellfraktion im intertubulären Gebiet der Lobuli testis darstellen.

Mit Zunahme der Hodenvolumina von 2,3 cm³ bis auf 22 cm³ nimmt die tubuläre Basallamina an Stärke ab. Die peritubulär gelegenen Zellen formieren sich zu einer 1 bis 3 Lagen dicken Manschette, die zuerst diskontinuierlich und dann bald lückenlos den Tubulus umgibt. Die einzelnen Zellen dieser Manschette flachen sich in zunehmendem Maße ab, ihre Kerne strecken sich. Bereits ab Volumina von 7,6 cm³ werden die noch soliden Tubuli von Zellen umgeben, welche lichtmikroskopisch eher nach glatten Muskelzellen als nach Bindegewebszellen aussehen.

Während der Phase der soliden Tubuli tritt in steigendem Maße eine positive Reaktion auf alkalische Phosphatase und auf Adenosintriphosphatase in der peritubulär arrangierten Zellschicht auf. Bei der alkalischen Phosphatase beobachtet man am Anfang dieser Entwicklung zuerst einzelne positive Bezirke, welche schon bei Hoden von 2,3 cm³ ab zu einer vollständigen peritubulären Schicht konfluieren. Kurz vor der Lumenbildung ist die Lage vollständig. In der Phase der Lumenbildung werden die Tubuli von einer breiten, sehr intensiv alk. P^{ase}-positiven Schicht umgeben. Auch die ATP^{ase}, die vorher im peritubulären Grenzbereich mäßig reagiert hat, zeigt nun eine intensive Reaktion in den abgeflachten, peritubulären Zellen.

Bei Erreichen der adulten Situation bleibt die starke Reaktion der ATP^{ase} in den peritubulären Zellen erhalten, während sich die Intensität der alk. P^{ase} demgegenüber und gegenüber der Situation während der Lumenbildung deutlich abschwächt.

Unsere Ergebnisse belegen, daß sich die Membrana propria der Hodentubuli des Schafes während der postnatalen Ontogenese in charakteristischer Weise verändert. Relativ typische, flache, peritubuläre Zellen treten etwa ab Hodenvolumina von 7,6 cm³ um die soliden Tubuli auf. Die flachen Fibrozyten der äußeren Grenzsicht sieht man mit Einsetzen der Lumenbildung. Zu diesem Zeit-

punkt geben die peritubulären Zellen durchgehende und kräftige Reaktionen auf alk. P^{ase} und ATP^{ase}. Interessanterweise schwächt sich die alk. P^{ase}-Reaktion in den peritubulären Schichten im adulten Zustand wieder ab, während die ebenfalls kontraktilen Myofibroblasten um die Tubuli recti nach wie vor kräftig auf alk. P^{ase} reagieren.

5. Zusammenfassung:

Die postnatale Ontogenese des Hodens von Schafen der Rasse Merino bzw Merino-Suffolk im Zeitraum vom 11. Lebenstag bis zum Erreichen der adulten Situation wurde mit lichtmikroskopischen, enzym- und substrathistochemischen sowie quantitativ - morphometrischen Methoden untersucht. Mit Ausnahme der histochemischen Untersuchungen, die am Gefrierschnitt durchgeführt wurden, kam ausschließlich perfusionsfixiertes Material zur Verwendung.

Die Untersuchung konzentrierte sich auf die Lobuli testis, die Bindegewebskomponenten des Hodens (Trabeculae testis, Mediastinum testis, Tunica albuginea) fanden in dieser Studie keine Berücksichtigung. Regionale Unterschiede innerhalb des Organes sind nach unseren Befunden beim Schaf in der Ontogenese ohne Bedeutung.

Zwischen Hodenvolumen (in cm^3) und Entwicklungsgrad der Tubuli seminiferi bestehen engere Beziehungen als zwischen Lebensalter und Reifegrad der Tubuli. Die histologische Tubulusentwicklung läßt sich in 3 Hauptphasen untergliedern: Phase der soliden Tubuli, pubertäre Phase, adulte Situation. Zu Beginn der postnatalen Ontogenese machen die Tubuli ca. 52 % des Gewebes aus, die Tubulusdurchmesser liegen bei 40 μm . In der Entwicklungsphase mit soliden Tubuli nimmt der Tubulusanteil auf ca. 60 % zu, der Durchmesser steigt auf ca. 80 μm . Solide Tubuli werden von Stützzellen gebildet, zwischen denen Praespermatogonien anzutreffen sind. Die Tubuli sind von einer primitiven Membrana propria umgeben. Gegen Ende dieser Phase etablieren sich die Spermatogonien an der tubulären Basis. Die pubertäre Phase beginnt mit Ausbildung eines tubulären Lumens und endet, wenn im Keimepithel eine komplette Spermatogenese ablaufen kann. Die Stützzellen wandeln sich in Sertolizellen um. Die peritubulären Zellen der Membrana propria sind als Myofibroblasten anzusprechen. In der pubertären Phase nimmt der Tubulusanteil auf Werte von 80 % zu, die Tubulusdurchmesser steigen auf ca. 200 μm , was der adulten Situation entspricht. Der Beginn der pubertären Phase läßt sich voraussagen für ein Lebensalter von über 100 Tagen und ein Hodenvolumen von über 25 cm^3 .

Die größeren Gefäße liegen in den Trabeculae testis. Innerhalb

der Lobuli testis stellt das Gefäßsystem zwischen 3 und 6 %; mehr als die Hälfte dieses Wertes entfällt auf die intertubulären Lymphgefäße.

Im intertubulären Areal können während der gesamten postnatalen Ontogenese Zellen der Bindegewebsreihe (mesenchymähnliche Fibroblasten bzw. Fibrozyten), mononukleäre Zellen (Lymphozyten und Makrophagen) und Leydigzellen nachgewiesen werden. Die peritubulär arrangierten Fibroblasten machen in der Phase der soliden Tubuli eine Metamorphose zu kontraktile Zellen durch. Die Fibroblasten der frühen Ontogenese sind gleichzeitig die Mutterzellen für Leydigzellen und faserbildende Fibrozyten.

Insgesamt ist der Zellanteil im intertubulären Areal beim Schaf gering. Bis zu einem Hodengewicht von 2,3 cm³ machen sie ca. 14 % des Volumens aus und fallen dann kontinuierlich auf Werte von 3 - 4 % zurück. Während dieser Entwicklung geht der Leydigzellanteil von 2,5 % auf unter 1 % (adulte Situation) des Volumens der Lobuli testis zurück. Kurz vor der Lumenbildung in den Tubuli lassen sich gehäuft degenerative Leydigzellen beobachten. Wegen der geringen Gesamtzahl von Leydigzellen beim Schaf verläuft diese Degeneration aber ziemlich diskret im Gegensatz zu den Verhältnissen beim Rind (Dostal, 1988).

Erfaßt man die intertubulären Zellen quantitativ - numerisch, so entfallen auf die Leydigzellen und die mononukleären Zellen je ca. 9 %, Bindegewebszellen einschließlich der peritubulären Zellen machen ca. 80 % aus.

Bis in die pubertäre Phase hinein stellt eine ungeformte, flüssigkeitsreiche Matrix mit 25 - 35 % einen beträchtlichen Anteil des Hodenvolumens. Sie dürfte in dieser Periode u.a. als Platzhalter für das Längen- und Dickenwachstum der Tubuli fungieren. Ende der pubertären Phase und in der adulten Situation entfallen auf die nun auch in steigendem Maße Fibrillenbündel enthaltende Matrix ca. 7 %.

6. Summary

Histological, histochemical and morphometric studies on the post-natal development of the male ovine gonad.

The postnatal ontogenesis of the testis of merino and merino-suffolk rams was studied from the 11th day of birth up to the adult situation with light microscopical, enzyme and substrate histochemical as well as quantitative-morphometric methods. With the exception of the histochemical studies, which were done on frozen sections, perfusion fixed material was exclusively used. The study was limited to the lobuli testis, the interstitial tissue components of the testis (trabeculae testis, mediastinum testis, tunica albuginea) were not evaluated. Regional differences within the testicular tissue are without any importance. There are closer relations between testicular volume and the histological development of the tubuli seminiferi than between age and histological maturity. The tubular development can be divided into three periods: period of the solid tubules, pubertal period, adult situation. At the beginning of the postnatal ontogenesis the tubules amount 52 % of the testicular tissue, tubular diameters measure about 40 μm . In the period with solid tubules the tubular part rises up to 60 %, the diameter up to 80 μm . Solid tubules are composed of supporting cells with intercalated praespermatogonia. The tubules are surrounded by a primitive membrana propria. At the end of this period spermatogonia find their place at the tubular basis. The pubertal period begins with the development of a tubular lumen and ends when complete spermatogenesis is observed in the germinal epithelium. The supporting cells differentiate into Sertoli cells. The peritubular cells of the membrana propria appear now as myofibroblasts. In the pubertal period the tubular part rises up to 80 %, the tubular diameters increase to 200 μm , which is nearly the adult situation. The beginning of the pubertal period can be predicted for an age of more than 100 days and a testicular volume of more than 25 g. The larger vessels are situated in the trabeculae testis. Inside the lobuli testis the vascular system amounts to 3 - 6 %; more than half of this percentage is formed by intertubular lymphatic ves-

sels. Cells of the connective tissue (mesenchyme-like fibroblasts, fibrocytes) mononuclear cells (lymphocytes and macrophages) and Leydig cells can be found in the intertubular area during the whole period of postnatal ontogenesis. In the period of the solid tubules the peritubularly arranged fibroblasts develop into contractile cells. The fibroblasts of the early ontogenesis are the precursors for Leydig cells as well as for fibre-forming fibrocytes.

On the whole, the percentage of cells within the intertubular area is very small in the sheep. Up to a testicular volume of 2.3 g they amount to 14 % of the volume and are then reduced continuously to 3 - 4 %. During this reduction the Leydig cell fraction goes back from 2.5 % to 1 % (adult situation) of the testicular lobular volume. Prior to the development of a tubular lumen irreversible degenerative events are observed in the Leydig cell population leading to the adult situation. Since the Leydig cell number is generally extraordinarily low in the ram as compared with other mammalian species the degenerative attrition of the ovine Leydig cell population at the beginning of the pubertal period is rather inconspicuous in comparison with the bovine situation as reported by Dostal (1988).

During the developmental phase with solid tubules the intercellular ground substance of the intertubular area is an important constituent of the early postnatal gonad and amounts 25 to 35 % of the testicular volume. This liquid rich matrix fills the spaces necessary for the expansion of the tubular compartment during phases of rapid tubular growth. At the end of the pubertal period the intercellular matrix between the tubules is reduced to about 7 %. In the adult an increasing amount of connective tissue fibers is observed between the testicular tubules.

7. LITERATUR

- Adam J (1972) Einführung in die Biostatistik, Reaktionskinetik und EDV. VEB Verlag Volk und Gesundheit: Berlin
- Barka T, Anderson FJ (1962) Histochemical methods for acid phosphatase using hexanonium pararosanilin as coupler. J Histochem Cytochem 10: 741-753
- Behrens H (1987) Lehrbuch der Schafkrankheiten. Dritte Auflage, Verlag Paul Parey: Berlin und Hamburg
- Bressler RS, Ross MH (1969) Pituitary involvement in testicular peritubular cell maturation. Anat Rec 163: 158-159
- Bustos-Obregón E, Courot M (1974) Ultrastructure of the lamina propria in the ovine seminiferous tubule. Development and some endocrine considerations. Cell Tissue Res 150: 481-492
- Courot M (1962) Développement du testicule chez l'agneau. éta- blissement de la spermatogenèse. Ann Biol anim Biochem Bio- phys 2: 25-41
- Deimling OH (1964) Die Darstellung phosphatfreisetzender Enzyme mittels Schwermetall-Simultan-Methode. Histochemie 4: 48-55
- Dellmann HD, Wrobel KH (1987) Male reproductive system. In: Text- book of veterinary histology, edited by Dellmann HD and Brown EM. Third edition pp 286-312, Lea and Febiger: Philadelphia
- Dierichs R, Wrobel KH (1973) Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an den peritubulären Zellen des Schweinehodens während der postnatalen Entwicklung. Z Anat Entwickl Gesch 143: 49-64
- Dostal S (1988) Histologische, morphologische und ultrastrukural- le Untersuchungen zur postnatalen Ontogenese der Gonaden des männlichen Rindes. Inaug Diss (med-vet) München

- Dyrmondsson DR (1978) A note on sexual development of icelandic rams. *Anim Prod* 26: 335-338
- Forssmann WG, Ito S, Weihe E, Aoki A, Dym M, Fawcett DW (1977) An improved perfusion fixation method for the testis. *Anat Rec* 188: 307-314
- Galina CS (1972) Histological and electronmicroscopical comparison between the immature equine, bovine, porcine and ovine testicles. *International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination* 7: 474-479
- Gomori G (1949) Histochemical specificity of phosphatases. *Proc Soc exp Biol (N.Y.)* 70: 7-11
- Holt SJ, Withers RFJ (1958) Studies in enzyme cytochemistry V, An appraisal of indigogenic reaction for esterase localization *Proc roy Soc B* 148: 520-532
- Hovatta O (1972) Effect of androgens and antiandrogens on the development of the myoid cells of the rat seminiferous tubules (organ culture). *Z Zellforsch* 131: 299-308
- Kormano M, Hovatta O (1972) Contractility and histochemistry of the myoid cell layer of the rat seminiferous tubules during postnatal development. *Z Anat Entwickl Gesch* 137: 239-248
- Kugler P, Wrobel KH (1978) Studies on the optimisation and standardisation of the light microscopical dehydrogenase histochemistry. *Histochemistry* 57: 47-60
- Leeson CR, Forman DE (1981) Postnatal development and differentiation of contractile cells within the rabbit testis. *J Anat* 132: 491-511
- Lajda Z (1965 a) Some remarks concerning the histochemical detection of disaccharidase and glucosidase. *Histochemie* 5: 339-360

- Lojda Z (1965 b) Remarks on histochemical detection of dehydrogenases II. Intracellular localization. Folia morph (Prague) 13: 84-96
- Lojda Z, Gossrau R, Schiebler TH (1976) Enzymhistochemische Methoden. Springer Verlag: Berlin Heidelberg New York
- Lunstra DD, Schanbacher BD (1988) Testicular function and Leydig Cell ultrastructure in long-term bilaterally cryptorchid rams. Biol Reprod 38: 211-220
- Pearse AGE (1972) Histochemistry. Theoretical and applied. Churchill Livingstone Edinburgh London and New York
- Rasch D (1983) Biometrie. Einführung in die Biostatistik. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin
- Romeis B (1968), Mikroskopische Technik, 16te Auflage. R Oldenbourg Verlag: München Wien
- Ross MH (1967) The fine structure and development of the peritubular contractile cell component in the seminiferous tubules of the mouse. Amer J Anat 121: 523-558
- Spurr AR (1969) A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J Ultrastruct Res 26: 31-43
- Swierstra EE (1966) Structural composition of shorthorn bull testes and daily spermatozoa production as determined by quantitative testicular histology. Can J Anim Sci 46: 107-119
- Watson RH, Sapsford CS, McCane I (1956) The development of the testis, epididymis and penis in the young merino ram. Austr J agric Res 7: 574-596
- Wrobel KH, Schilling E, Dierichs R (1973) Enzymhistochemische Untersuchungen an den Leydigzellen des Schweines während der postnatalen Ontogenese. Histochemie 36: 321-333

- Wrobel KH, Mademann R, Sinowatz F (1979) The lamina propria of the bovine seminiferous tubule. Cell Tissue Res 202: 357-377
- Wrobel KH, Sinowatz F, Mademann R (1981) Intertubular topography in the bovine testis. Cell Tissue Res 217: 289- 310
- Wrobel KH, Dostal S, Schimmel M (1988) Postnatal development of the tubular lamina propria and the intertubular tissue in the bovine testis. Cell Tissue Res 252: 639-653

An dieser Stelle möchte ich mich sehr herzlich bedanken bei:

Herrn Prof. Dr. Dr. K.H. Wrobel für die Überlassung des Themas, die wissenschaftliche Anleitung und Betreuung bei der Bearbeitung des Dissertationsthemas, sowie für die stets vorhandene Diskussionsbereitschaft.

Herrn Prof. Dr. B. Vollmerhaus für die Ermöglichung, die Dissertation über den Lehrstuhl für makroskopische Anatomie der Tiere der Tierärztlichen Fakultät der Universität München einzureichen.

Allen Mitarbeitern/innen des Lehrstuhls von Herrn Prof. Dr. Dr. K.H. Wrobel, insbesondere Frau Margit Schimmel, Ingeborg Hees und Sieglinde Geserer für die hilfreiche, technische Unterstützung, die sie mir zuteil kommen ließen.

Ein weiteres Dankeschön gilt den Mitarbeitern im Fotolabor, Frau Dassler und Herrn Siegert, Frä. Inge Ertl für ihre Hilfe bei den Schreibarbeiten und Herrn Rudolf Inkoferer für seine kompetente Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Lebenslauf

Name: Schmidt

Vorname: Josef

Geburtsdatum: 30. August 1959

Staatsangehörigkeit: deutsch

Religion: römisch/katholisch

Vater: Josef Schmidt, Schneidermeister

Mutter: Therese Schmidt, geb. Kellner

Schulbesuch: Volksschule Schmidmühlen
Erasmus-Gymnasium in Amberg

Schulabschluß: 1978 Allgemeine Hochschulreife

Wehrdienst: Wehrpflichtiger von 1978-1979

Studium: Ludwig-Maximilians-Universität
München von 1980-1985
Studiengang Tiermedizin, mit Ab-
schluß des 3. Staatsexamens im De-
zember 1985

berufl.Tätigkeit: Seit März 1986 Mitarbeit in der
tierärztlichen Praxis





